



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas



Instituto Nacional de Infectologia
Evandro Chagas

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

ÉRICA GUERINO DOS REIS

**ENSAIO CLÍNICO COMPARATIVO ENTRE
ITRACONAZOL E ASSOCIAÇÃO DE ITRACONAZOL E
IODETO DE POTÁSSIO NO TRATAMENTO DA
ESPOROTRICOSE FELINA**

Rio de Janeiro

2016

TESE DPCDI – INI

E.G.REIS

2016

ENSAIO CLÍNICO COMPARATIVO ENTRE ITRACONAZOL E
ASSOCIAÇÃO DE ITRACONAZOL E IODETO DE POTÁSSIO NO
TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE FELINA

ÉERICA GUERINO DOS REIS

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientador(es): Dra. Tânia Maria Valente Pacheco e Dra. Isabella Dib Ferreira Gremião

Rio de Janeiro

2016

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

R375 Reis, Érica Guerino dos

Ensaio clínico comparativo entre Itraconazol e associação de Itraconazol e iodeto de potássio no tratamento da Esporotricose felina / Érica Guerino dos Reis. – Rio de Janeiro, 2016.
xix, 102 f. : il. ; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2016.

Bibliografia: f. 82-91

1. Gatos. 2. *Sporothrix*. 3. Terapia. 4. Itraconazol. 5. Iodeto de potássio. 6. Associação. I. Título.

CDD 636.0896969

ÉRICA GUERINO DOS REIS

ENSAIO CLÍNICO COMPARATIVO ENTRE ITRACONAZOL E ASSOCIAÇÃO DE
ITRACONAZOL E IODETO DE POTÁSSIO NO TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE FELINA

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em
Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientador(es): Dra. Tânia Maria Valente Pacheco
Dra. Isabella Dib Ferreira Gremião

Aprovada em: / /

BANCA EXAMINADORA

Dra. Mônica Bastos de Lima Barros – ENSP/Fiocruz (Presidente)

Dra. Lusiele Guaraldo – INI/Fiocruz

Dr. Carlos Zarden Feitosa de Oliveira – UFRRJ

Dr. Dayvison Francis Saraiva Freitas – INI/Fiocruz

Dr. Sandro Antonio Pereira – INI/Fiocruz

Dra. Luisa Helena Monteiro de Miranda – INI/Fiocruz

Ao amor da minha vida, Lucas.

A minha dupla, Chambinho e Anouk; saudade
que não cabe no peito.

Aos meus pacientes, todo meu carinho pela
doação e aprendizado.

AGRADECIMENTOS.

A Deus, por tudo e mais um pouco;

As minhas orientadoras, Dra. Tânia Maria Valente Pacheco e Dra. Isabella Dib Ferreira Gremião, pela oportunidade, amizade, credibilidade e pelo incentivo em todos os momentos, sempre!

À Dra. Mônica Bastos de Lima Barros, revisora, amiga e contribuidora assídua de nossos estudos.

Ao gestor do Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos, do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Sandro Antonio Pereira, assim como à toda equipe do Laboratório pela amizade, carinho, suporte técnico irrestrito e pelo agradável ambiente de trabalho.

À Jessica Nunes Silva, pela parceria durante os quatro anos de doutorado, especialmente por abraçar esse estudo como seu no momento em que mais precisei.

Aos “Aussie friends” pela divertida jornada até aqui. E que esse grupo possa conquistar mais alegrias e conquistas.

Às amigas “Nós 6” pelo carinho, descontração, amizade e por terem ouvidos extraterrenos. Haja paciência...comigo!

À Plataforma de Pesquisa do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, especialmente ao estatístico Marcel de Souza Borges Quintana, por toda análise desse projeto e pela paciência.

À farmacêutica Noemi Pereira Lorenzi, pela incansável presteza em fracionar os medicamentos aos nossos pacientes.

Às companheiras, Denise, Natália e Isabel. Com vocês é muito mais fácil!

À minha família, especialmente à mamãe/ minha vovó Rita e ao meu companheiro, Leandro. À minha tia Aladia e minha avó Eloisa por terem sido um pouco mãe do meu pequeno grande tesouro.

Aos meus cães, Anouk, Chambinho, Preta. À minha gata – frangolina, Didi. E ao mais novo membro da família, Gigi. Toda a dedicação aos animais nunca é demais; “eles já nascem sabendo amar de um jeito que nós levamos a vida inteira para aprender”.

Às agências de fomento que apoiaram esse estudo: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro.

Ao meu verdadeiro conto de fadas; Lucas. Você é a razão de tudo!

"Aquilo que você está vivendo, o peso
que você está carregando, não é nada
comparado à alegria que te espera"

(Padre Fábio de Melo)

Reis EG. **Ensaio clínico comparativo entre itraconazol e associação de itraconazol e iodeto de potássio no tratamento da esporotricose felina.** Rio de Janeiro, 2016. 102f. Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

RESUMO

A esporotricose felina é uma doença endêmica no Rio de Janeiro, Brasil, onde a transmissão zoonótica de *Sporothrix* spp tem sido relatada desde 1998. O itraconazol (ITZ) permanece como o fármaco de escolha para o tratamento da doença em gatos. No entanto, casos de falha terapêutica e longo tempo de tratamento têm sido descritos. O iodeto de potássio (KI), considerado no passado como um fármaco de efetividade variável em gatos com esporotricose, surge como uma opção importante no tratamento desses animais provenientes da área endêmica do Rio de Janeiro. A fim de avaliar a efetividade e a segurança de ITZ associado ao KI, foi realizado um ensaio clínico randomizado em 166 gatos com esporotricose que receberam ITZ 100 mg/dia ou ITZ 100 mg/dia + KI 2,5-20 mg/kg/dia. O estudo foi conduzido em gatos atendidos no Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (Lapclin-Dermzoo), Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI)/Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), entre 2013 e 2016. Os gatos considerados elegíveis para este estudo foram aqueles com esporotricose confirmada pelo isolamento de *Sporothrix* spp. em cultura; ausência de terapia antifúngica prévia, e peso ≥ 3 kg. Os gatos foram submetidos a exame clínico e a exames laboratoriais uma vez por mês de acordo com o protocolo de tratamento. O critério para definir a cura clínica foi a cicatrização completa das lesões cutâneas/mucosas e remissão dos sinais clínicos inicialmente apresentados. Após a cura clínica, a terapia foi mantida por um período adicional de quatro semanas, o que correspondeu à consulta de alta. Todos os procedimentos e fármacos foram fornecidos gratuitamente. Gatos que apresentaram reações adversas clínicas (hiporexia ou anorexia combinada com a perda de $> 10\%$ do peso corporal), associadas ou não a alterações das transaminases, tiveram a terapia suspensa temporariamente por um período mínimo de sete dias [ITZ] e 10 dias [KI]. A reintrodução de cada fármaco aconteceu em tempos alternados e diferentes na tentativa de descobrir qual fármaco estava causando a reação adversa. Além disso, gatos que apresentaram alteração leve das transaminases hepáticas receberam silimarina 30 mg/kg por via oral, uma vez ao dia. A cura foi observada em 42 (50,6%) gatos do grupo ITZ e 73 (88%) do grupo ITZ + KI, com tempo de tratamento semelhante (15 semanas cada). O *Hazard Ratio* ajustado pelo modelo logístico demonstrou que o tratamento com ITZ+KI foi associado a cura clínica (HR 1,77, IC95% 1,2 – 2,62), mesmo quando controlado por sinais extracutâneos. Incrementos na dose de KI foram necessários em 28 gatos devido à

resposta clínica insatisfatória. As reações adversas foram igualmente frequentes entre os gatos que receberam ITZ (33,7%), e ITZ + KI (39,7%) e foram manejados com a suspensão temporária do(s) fármaco(s), e/ou terapia hepatoprotetora. A associação de ITZ e KI é mais efetiva que a monoterapia com ITZ e emerge como a primeira opção para o tratamento de esporotricose felina.

Palavras-chave: 1. Gatos. 2. *Sporothrix*. 3. Terapia. 4. Itraconazol. 5. Iodeto de potássio. 6. Associação.

Reis EG. **Comparative clinical trial of itraconazole and its association with potassium iodide for the treatment of feline sporotrichosis.** Rio de Janeiro, 2016. 102s. Thesis [PhD in Clinical Research on Infectious Diseases] – Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI).

ABSTRACT

Feline sporotrichosis is an endemic disease in Rio de Janeiro, Brazil, where zoonotic transmission of *Sporothrix* has been reported since 1998. Itraconazole (ITZ) remains the first choice for treating this disease in cats. However, there have been reports of therapeutic failure and a long-term endeavor. Potassium iodide (KI), considered in the past as a drug with variable effectiveness in cats with sporotrichosis, arises as an important option in the treatment of cats from the endemic area of Rio de Janeiro. In order to evaluate the effectiveness and safety of ITZ associated with KI, a randomized clinical trial was performed on 166 cats receiving ITZ 100 mg/day or ITZ 100 mg/day + KI 2.5-20 mg/kg/day. The study was conducted in cats assisted at the Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (Lapclin-Dermzoo), Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) /Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), during the period of 2013 – 2016. The cats considered eligible for this study were those with sporotrichosis confirmed by isolation of *Sporothrix* spp. in culture, no previous systemic antifungal therapy, and weight >3 kg. The cats underwent a clinical examination and laboratory tests once a month according to the standard care protocol. The criteria for clinical cure were complete healing of the skin/mucosal lesions and remission of clinical signs initially presented. After clinical cure, the therapy was maintained for an additional period of four weeks, which corresponded to the discharge assessment. All procedures and drugs were supplied free-of-charge for the cats' owners. Cats presenting hyporexia or anorexia combined with loss of > 10% of body weight, or the association of clinical adverse reactions and an elevation of transaminases levels had a temporary suspension of the drugs (minimum seven days [ITZ] and ten days [KI]). The reintroduction of each drug happened in alternated and different times in the attempt to discover which drug was causing the unwanted effect. Moreover, cats with a mild elevation in transaminases levels received a hepatoprotective therapy with oral silymarin 30 mg/kg, once a day. Cure was observed in 42 (50.6%) cats of the ITZ group and 73 (88%) of the ITZ+KI group within a similar median period of time (15 weeks each). Furthermore, the HR adjusted by the logistic model showed that the ITZ+KI treatment was associated with clinical cure (HR 1.77, 95 per cent CI 1.2 to 2.62), even when controlled for extracutaneous signs. An increase in the KI dose was necessary in 28 cats due to the slow improvement of the lesions. The adverse reactions were equally frequent among cats receiving ITZ (33.7%), and ITZ+KI (39.7%) and were managed with a temporary drug suspension and/or a hepatoprotective therapy. The association of ITZ and KI is

more effective as ITZ monotherapy and arises as a first option for the treatment of feline sporotrichosis.

Keywords: 1. Cats. 2. *Sporothrix*. 3. Therapy. 4. Itraconazole. 5. Potassium iodide. 6. Association.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 HISTÓRICO.....	3
2.2 ESPOROTRICOSE E COMPLEXO <i>SPOROTHRIX</i>	4
2.3 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	7
2.4 ESPOROTRICOSE ZOONÓTICA.....	9
2.5 ESPOROTRICOSE FELINA.....	11
2.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.....	12
2.7 BOAS PRÁTICAS RELACIONADAS À MANIPULAÇÃO DE <i>SPOROTHRIX SP.</i>	15
2.8 ASPECTOS TERAPÊUTICOS.....	16
2.8.1 Iodetos.....	17
2.8.2 Azólicos.....	19
2.8.2.1 Cetoconazol.....	20
2.8.2.2 Itraconazol.....	20
2.8.3 Anfotericina B.....	22
2.8.4 Terbinafina.....	23
2.8.5 Termoterapia.....	24
2.8.6 Associação entre itraconazol e iodeto de potássio.....	24
3 JUSTIFICATIVA.....	26
4 OBJETIVOS.....	27

4.1 OBJETIVO GERAL.....	27
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
5. METODOLOGIA.....	28
5.1 DEFINIÇÃO DOS TERMOS UTILIZADOS.....	28
5.2 DESENHO DO ESTUDO.....	30
5.3 CASUÍSTICA.....	30
5.4 CÁLCULO AMOSTRAL.....	30
5.5 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE.....	31
5.6 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	31
5.7 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO.....	31
5.8 PROCEDIMENTOS DE INCLUSÃO E ACOMPANHAMENTO.....	32
5.8.1 Exame Clínico.....	32
5.8.2 Coleta de Sangue.....	33
5.8.3 Coleta de secreções nasal, exsudato e fragmento de lesão cutânea..	33
5.8.4 Documentação fotográfica digital.....	34
5.9 GRUPOS DE TRATAMENTO.....	34
5.10 MONITORAMENTO CLÍNICO E LABORATORIAL.....	35
5.11 CRITÉRIOS PARA A INTERRUPÇÃO TEMPORÁRIA DO PROTOCOLO PREVISTO.....	35
5.12 CRITÉRIOS PARA A INTERRUPÇÃO DEFINITIVA DO PROTOCOLO PREVISTO.....	36
5.13 DESFECHOS.....	36
5.14 SEGUIMENTO PÓS - TERAPÊUTICO.....	36
5.15 ANÁLISE DE DADOS.....	37
6. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	39

7 RESULTADOS.....	40
7.1 CAPÍTULO I.....	40
7.2 CAPÍTULO II.....	48
7.2.1 Ensaio clínico.....	48
7.2.2 Características demográficas, clínicas e laboratoriais.....	50
7.2.3 Avaliação do tratamento.....	55
7.2.4 Reações Adversas.....	65
7.2.5 Modelo de regressão de Cox.....	68
7.2.6 Seguimento pós-terapêutico.....	72
8 DISCUSSÃO.....	75
9 CONCLUSÃO.....	80
10 EQUIPE.....	81
11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	82
ANEXOS.....	92
ANEXO “A” - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	93
ANEXO “B” - Tabelas de graus de toxicidade clínica, adaptadas para felinos...	96
ANEXO “C” - Tabela de graus de toxicidade hepática para felinos.....	97
APÊNDICES.....	98
APÊNDICE “A” - Ficha de Notificação/Investigação (Epizootia).....	99
APÊNDICE “B” - Licença CEUA/Fiocruz.....	100
APÊNDICE “C”- Termo aditivo: CEUA/Fiocruz	101
APÊNDICE “D” – Resíduos de Schoenfeld.....	102

LISTA DE ABREVIATURAS

AACTG - *Adult aids clinical trial group*

ALT - Alanina aminotransferase

AST - Aspartato aminotrasferase

BHI - *Brain Heart Infusion* (infusão de cérebro e coração)

CD4⁺ - *Cluster of Differentiation* (Grupo de diferenciação de membrana 4)

CD8⁺ - *Cluster of Differentiation* (Grupo de diferenciação de membrana 8)

CEUA - Comissão de ética no uso de animais

DNA - *Deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)

ELISA - *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ensaio imunoenzimático)

EPI - Equipamento de proteção individual

EUA - Estados Unidos da América

FeLV - *Feline leukemia virus* (vírus da leucemia felina)

Fiocruz - Fundação Oswaldo Cruz

FIV - *Feline immunodeficiency virus* (vírus da imunodeficiência felina)

HR - *Hazard ratio*

IC – Intervalo de confiança

IQH – Técnica de imuno-histoquímica

INI - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas

ITZ - Itraconazol

kg - Quilograma

KI - Iodeto de potássio

Labclin - SBIOQ–Laboratório de Análises Clínicas, seção Bioquímica

Labclin - SHEM–Laboratório de Análises Clínicas, seção Hematologia

LabMicol - Laboratório de Micologia

Lapclin-Dermzoo - Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos

md - Mediana

mg – Miligrama

Nal - iodeto de sódio

PCR - *Polimerase chain reaction* (reação em cadeia da polimerase)

pFET- Teste exato de Fisher

pMWU - Teste U de Mann-Whitney

pKW - Teste de Kruskal-Wallis

pX² - Teste de quiquadrado

SeFarm - Serviço de Farmácia

SSKI - Solução saturada de iodeto de potássio

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura	1	Fluxograma de atendimento dos gatos com suspeita de esporotricose pré-incluídos no ensaio clínico e atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz entre janeiro de 2013 e maio de 2016..	49
Gráfico	1	Procedência dos 166 casos de esporotricose felina incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	50
Gráfico	2	Lesões cutâneas observadas ao primeiro atendimento nos 166 casos de esporotricose felina incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	51
Gráfico	3	Frequência das lesões cutâneas por sítio anatômico agrupado nos 166 casos de esporotricose felina incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	52
Gráfico	4	Frequência de lesão mucosa observada ao primeiro atendimento nos gatos com esporotricose incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016)	53
Gráfico	5	Frequência de sinais respiratórios observados ao primeiro atendimento nos gatos com esporotricose incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	53
Figura	2	(a) Gato com esporotricose atendido no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz apresentando úlcera no membro posterior esquerdo antes do tratamento; (b) foto aproximada da lesão no membro posterior esquerdo; (c,d) cicatrização da lesão após 4 semanas de tratamento com ITZ.....	56
Figura	3	(a,b) Gato com esporotricose atendido no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz apresentando nódulo no nariz e envolvimento da mucosa nasal antes do tratamento; (c) cicatrização da lesão após 4 semanas de tratamento com ITZ+KI; (d) ausência de lesões cutâneas e mucosas 4 semanas após a cura; Interrupção definitiva dos fármacos – alta.....	57

Figura	4	Distribuição dos desfechos dos 166 gatos com esporotricose incluídos no estudo e tratados com ITZ e ITZ+KI entre 2013 e 2016 (Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz).....	58
Figura	5	Curva de Kaplan Meier: Distribuição dos tempos até a alta nos gatos com esporotricose submetidos ao tratamento com ITZ e ITZ+KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	60
Figura	6	(a) Gato com esporotricose atendido no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz apresentando úlcera no membro posterior direito antes do tratamento; (b) foto aproximada da lesão no membro posterior direito; (c,d) estagnação da lesão após 20 semanas de tratamento com ITZ – falha terapêutica.....	61
Figura	7	Snap teste combo FIV/FelV (IDEXX-Laboratories); Exame positivo para antígenos de FelV utilizando soro de gato com esporotricose.....	63
Gráfico	6	Número de gatos com reações adversas clínicas (RAC) durante o seguimento terapêutico, de acordo com o grupo de tratamento; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	67
Gráfico	7	Número de gatos com alteração das transaminases hepáticas (THEP) durante o seguimento terapêutico, de acordo com o grupo de tratamento; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	68
Figura	8	(a) Gato com esporotricose atendido no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz apresentando úlcera na cauda antes do tratamento; (b) foto aproximada da lesão em base da cauda; (c) cicatrização da lesão após 8 semanas de tratamento com ITZ+KI; (d) reativação da lesão 8 semanas após suspensão dos fármacos.....	74

LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1	Características clínico-epidemiológicas dos gatos com esporotricose (n=166) tratados com ITZ e ITZ+KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	54
Tabela 2	Alterações hematológicas e bioquímicas prévias ao tratamento observadas nos gatos com esporotricose incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	55
Tabela 3	Frequência de alta e mediana do tempo de tratamento dos gatos com esporotricose tratados com ITZ e ITZ+KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	59
Quadro 1	Características clínicas observadas nos gatos que apresentaram falha terapêutica (n=25) - grupo ITZ (G1); Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	62
Tabela 4	Gatos do grupo ITZ+KI (G2) que apresentaram resposta clínica insatisfatória e a mediana do aumento da dose do KI correspondente.....	64
Tabela 5	Descrição da forma de administração do(s) fármaco(s) nos 166 gatos com esporotricose incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	64
Tabela 6	Reações adversas clínicas observadas nos gatos com esporotricose submetidos ao tratamento com ITZ e ITZ+KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	65
Tabela 7	Comparação entre o tempo e a ocorrência de reações adversas por grupo de tratamento nos gatos com esporotricose incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	66

Tabela 8	Modelo Univariado de Cox para avaliação das variáveis clínico-epidemiológicas de interesse nos 166 gatos com esporotricose incluídos no estudo e tratados com ITZ e ITZ + KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	69
Tabela 9	Modelo de regressão de Cox ajustado e controlado por grupo de tratamento dos 166 gatos com esporotricose incluídos no estudo e tratados com ITZ e ITZ+KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	71
Quadro 2	Ocorrência de recidiva nos gatos incluídos no estudo observada durante o período de seguimento pós-terapêutico; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).....	73

1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea causada por fungos dimórficos do complexo *Sporothrix*, que são encontrados mundialmente e os diferentes genótipos do fungo podem estar intimamente relacionados com sua virulência. Essa infecção era considerada como doença negligenciada; mas, atualmente, é classificada como emergente e de grande importância em saúde pública em vários países, especialmente os tropicais e subtropicais ¹.

A infecção geralmente ocorre após a inoculação traumática do agente etiológico durante o manuseio de solo contaminado, plantas ou matéria orgânica, através da pele ou mucosas. Outra forma de infecção inclui a transmissão zoonótica, que está associada a arranhaduras e mordeduras de animais, especialmente os gatos².

A epidemia de esporotricose com transmissão zoonótica relacionada a gatos está em curso há mais de 18 anos no Rio de Janeiro, e permanece como problema sanitário, afetando um grande número de seres humanos, incluindo donos de gatos, veterinários e indivíduos infectados com vírus da imunodeficiência humana. No Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), cerca de 5.000 casos humanos, 4.703 gatos e 240 cães foram diagnosticados com a doença até 2015 (Comunicação pessoal*). Nessa epidemia, o gato é a principal fonte de infecção do fungo^{3, 4} e *Sporothrix brasiliensis* é o agente etiológico mais prevalente, embora *S. schenckii* também seja encontrado em menor proporção ^{5, 6}.

O tratamento da esporotricose felina é difícil devido a fatores socioeconômicos, ambientais e à ausência de um programa de saúde pública que invista em programas de educação em saúde em áreas carentes. Desta forma, atualmente os protocolos terapêuticos utilizados em gatos são de fundamental importância para o controle da doença. No entanto, o itraconazol, considerado o fármaco de eleição, apresenta taxa de cura variável. A associação de itraconazol (ITZ) e iodeto de potássio (KI) tem sido utilizada com sucesso em infecções fúngicas de difícil resolução em seres humanos⁷⁻¹¹

e em gatos com esporotricose refratária ao triazólico¹². Esses resultados inspiraram a equipe do Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (Lapclin-Dermzoo) a conduzirem um ensaio clínico controlado em gatos provenientes da epidemia de esporotricose do Rio de Janeiro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

A esporotricose humana foi descrita originalmente em 1898 por Benjamin Schenck no Hospital Johns Hopkins em Baltimore, Estados Unidos (EUA). Erwin F. Smith, estudou o isolado fúngico e o identificou como uma espécie de “*Sporothrichum*”¹³. Dois anos mais tarde, Hektoen e Perkins¹⁴ confirmaram as observações de Schenck através de outro caso clínico, onde o cultivo do material da lesão revelou um fungo idêntico ao anteriormente descrito, o qual foi nomeado *Sporothrix schenckii*.

Em 1903 foi observado o primeiro caso de esporotricose na França e relatada a utilização de iodeto de potássio como tratamento¹⁵. Entre 1906 e 1912, De Beurmann e Gougerot¹⁶ reuniram cerca de 200 casos de esporotricose e realizaram uma revisão da doença, na qual foram descritas as principais formas clínicas e a terapêutica dessa micose.

No Brasil, Lutz e Splendore¹⁷ descreveram o primeiro caso de infecção natural em ratos e relataram cinco casos da doença em humanos, assim como o tratamento com KI.

Em 1912, Terra e Rabelo descreveram o primeiro caso humano no Rio de Janeiro¹⁸ e o primeiro caso de esporotricose animal foi relatado em uma mula¹⁹. Após este relato, novos casos foram registrados na Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Acre e Pernambuco¹⁸.

O primeiro caso da doença naturalmente adquirida em felinos ocorreu em 1954 em Cambuquira, estado de Minas Gerais. O tratamento foi iniciado com KI, porém o animal foi a óbito poucos dias após a instituição da terapia²⁰.

No Rio de Janeiro, a primeira descrição de um caso felino ocorreu somente em 1998 ²¹. Entretanto, Cruz ²² relatou a ocorrência de casos isolados de esporotricose felina na década de 1980.

Desde 1998, o INI/Fiocruz vem acompanhando a ocorrência dessa micose na região metropolitana do Rio de Janeiro, que é considerada a primeira epidemia associada à transmissão zoonótica na literatura mundial ²³.

2.2 ESPOROTRICOSE E COMPLEXO *SPOROTHRIX*

A esporotricose é uma micose subcutânea causada pela implantação de fungos dimórficos do complexo *Sporothrix schenckii*, que acomete seres humanos e animais, como gatos, cães, cavalos, porcos, aves, roedores, dentre outros ^{6, 24}.

Sporothrix spp., na natureza ou em meio de cultura a 25 °C, cresce na forma filamentosa; enquanto que em parasitismo ou em meio de cultura a 37 °C, encontra-se na forma de levedura ²⁵.

Alguns autores caracterizam a esporotricose como uma micose de implantação já que a infecção pode acometer além da pele e tecido subcutâneo, vasos linfáticos, músculos, cartilagem e tecido ósseo ²⁶.

Classicamente, a transmissão de *Sporothrix* spp. ocorre através da pele pela implantação traumática do fungo presente em matéria vegetal ou solo ²⁴ e raramente através da inalação do esporo ²⁷. Uma outra forma de transmissão é a zoonótica, que ocorre através de arranhadura e mordedura de animais infectados, principalmente gatos, ou do contato com o exsudato das lesões cutâneas destes ².

Sporothrix schenckii, anteriormente considerado o único agente da esporotricose, pertence na verdade a um complexo de espécies crípticas que incluem: *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix schenckii sensu stricto*, *Sporothrix globosa*, *Sporothrix mexicana*, *Sporothrix luriei*, e *Sporothrix pallida* ²⁸. As espécies incorporadas neste complexo diferem em relação à ecologia, virulência, morfologia, e resposta a antifúngicos, o que reflete diretamente nas estratégias frente a epidemias e níveis de patogenicidade para os

mamíferos²⁹. As seis espécies do complexo já foram descritas no Brasil, entretanto, até o momento a esporotricose humana foi relacionada apenas a *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix globosa*, *Sporothrix mexicana* e *Sporothrix schenckii sensu stricto*³⁰.

Sporothrix brasiliensis é a espécie mais virulenta do complexo, sendo restrita ao território brasileiro e associada a elevada mortalidade e poder de disseminação em modelo murino^{31, 32}. Em pacientes humanos, a infecção por esta espécie foi associada a doença cutânea disseminada, reações de hipersensibilidade e infecções de mucosas⁵. É uma espécie com baixa diversidade genética e genótipos idênticos de *S. brasiliensis* têm sido descritos a partir de gatos e seres humanos⁶. A virulência de *S. brasiliensis* é frequentemente associada à transmissão horizontal enquanto *S. Schenckii sensu stricto* e *S. globosa* parecem estar envolvidos com a via clássica (saprofítica) de transmissão para humanos. Com exceção de *S. pallida*, todas as outras espécies foram associadas à transmissão da doença em humanos e animais^{29, 33}.

No Brasil, *S. brasiliensis* é o agente etiológico mais prevalente entre seres humanos e gatos doentes^{6, 29, 34-36}. Essa espécie possui melhor taxa de crescimento quando incubada a 37°C; temperatura muito similar à fisiológica de gatos (37.5 a 39°C) e esta condição promoveria a seleção de cepas resistentes durante a epidemia. A transmissão de *S. brasiliensis* por meio de gatos infectados promove a inoculação de células leveduriformes (mais virulentas) ao invés de hifas e conídios. A interação entre gatos e *S. brasiliensis* não é exclusiva, uma vez que *S. schenckii stricto sensu* também é encontrado no hospedeiro felino. No entanto, *S. brasiliensis* tornou-se predominante neste hospedeiro em menos de uma década, indicando indiretamente uma recente adaptação às condições desse hospedeiro⁶.

Sporothrix schenckii sensu stricto é considerada a segunda espécie mais patogênica do complexo³¹. Esse agente apresenta ampla distribuição geográfica, com casos confirmados em seres humanos e animais no continente Americano (EUA, Brasil, Peru, Argentina, Venezuela, Colômbia, Bolívia, Guatemala e México), Europa (França, Itália, e Reino Unido), África (África do Sul) e Ásia (Japão)³⁶⁻³⁹.

Sporothrix globosa é uma espécie de distribuição mundial, e está associada à via clássica (saprofítica) de transmissão para humanos, com isolamento no Reino Unido, Espanha, Itália, EUA, China, Japão e Índia ³⁷; além do México, Guatemala e Colômbia⁴⁰. Em 2014 foi relatado o primeiro caso autóctone em Portugal ⁴¹. No Brasil, foram descritos, casos nos estados do Rio de Janeiro ⁴², Minas Gerais, Ceará, Goiás ⁶ e Espírito Santo ^{43,44}.

Sporothrix mexicana, anteriormente limitada ao território do México ⁴⁵ foi isolada em solo na Austrália, em amostra de paciente humano de Portugal e mais recentemente em três casos humanos no Brasil ^{6,46}.

Sporothrix luriei é considerada uma espécie clínica rara, com isolamento confirmado na África do Sul, Índia e, em um caso de esporotricose canina no Brasil ^{37,47}.

Sporothrix pallida é uma espécie ambiental e considerada não patogênica, no entanto, Morrison e colaboradores ⁴⁸ descreveram um caso de ceratite fúngica causada por essa espécie em uma paciente humana, proveniente de Atlanta, nos Estados Unidos.

Sporothrix chilensis, foi isolado recentemente a partir de amostras ambientais e de um caso de onicomicose em Vinha del Mar, Chile. A via de infecção por *S. chilensis* possivelmente refere-se a um trauma acidental com o solo contaminado ou matéria vegetal, semelhante ao descrito para *S. globosa* e à maioria dos casos ocasionados por *S. schenckii* até o momento. Ainda que essa nova espécie não seja considerada como um patógeno primário, a infecção acidental pode ter um impacto importante na população imunossuprimida ⁴⁹.

2.3 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A esporotricose tem emergido como uma importante infecção fúngica ao longo das duas últimas décadas devido às mudanças em sua epidemiologia, distribuição geográfica, evolução taxonômica e múltiplos surtos. A doença apresenta distribuição mundial, principalmente em regiões tropicais e subtropicais. Sua ocorrência já foi reportada na África do Sul, América Latina (Brasil, Argentina, Colômbia, Chile, Guatemala, México e Peru), Ásia (China, Índia, Japão e Malásia), Estados Unidos (EUA), Europa e Austrália ³⁷.

A primeira grande epidemia de esporotricose em seres humanos ocorreu na década de 1940 em Witwatersrand, África do Sul, onde aproximadamente 3.000 casos foram registrados em mineradores e o fungo foi isolado da madeira de sustentação dos túneis das minas ⁵⁰. Após esse evento, outros casos foram relatados no Zimbábue, Nigéria e Sudão. Mais recentemente, casos de esporotricose linfocutânea foram associados a fontes ambientais em mineradores de Barbetown, África do Sul ⁵¹.

Nos EUA, a maior casuística de esporotricose ocorreu em 1988, onde 84 casos foram registrados em trabalhadores envolvidos em programas de reflorestamento. Os casos foram associados à exposição ao esfagno contaminado com *S. schenckii* e utilizado para a embalagem de mudas ⁵². Posteriormente, outros casos também foram descritos e relacionados ao feno contaminado ⁵³.

A esporotricose em seres humanos no continente Asiático já foi amplamente reportada em países como China, Índia, Japão e Malásia. Desde o primeiro relato clínico de esporotricose na China, em 1916, mais de 4.000 casos já foram relatados. A doença tem sido reportada em quase todas as províncias com maior número de casos em Jilin, onde mais de 450 casos foram diagnosticados ⁵⁴.

No Japão, mais de 3.000 casos humanos foram reportados desde o relato de Fukushiro⁵⁵ embora atualmente o número de casos tenha decrescido consideravelmente.

O primeiro caso de esporotricose humana na Índia foi relatado por Ghosh em 1932 e, desde então, a doença vem sendo relatada em todo o país com prevalência na região Sub-Himalaia, norte, noroeste e ao sul de Karnataka ³⁷.

De 1998 a 2012, mais de 1.500 casos humanos foram diagnosticados no Peru, onde a esporotricose é endêmica na região dos Andes, especialmente em Abancay, área economicamente desfavorecida; sem saneamento e carente em serviços de saúde ⁵⁶.

A esporotricose no México ocorre principalmente nas regiões de clima tropical úmido. Somente no estado de Jalisco, principal região acometida, mais de 1.000 casos humanos foram diagnosticados ³⁷.

A epidemiologia da esporotricose no Brasil tem sido largamente elucidada a partir da descrição de grandes séries de casos. Historicamente, a forma clássica de transmissão ocorria por inoculação traumática do agente etiológico durante o manuseio de matéria orgânica, como prevalece em outros países. No entanto, desde o final da década de 1990, a esporotricose na região metropolitana do Rio de Janeiro tornou-se um fenômeno urbano endêmico/epidêmico, caracterizado basicamente pela transmissão zoonótica em ambiente domiciliar, onde a principal forma de infecção envolve a inoculação do agente na pele através de mordeduras, arranhaduras ou contato com o exsudato das lesões cutâneas de gatos doentes ^{30, 37, 57}.

No Brasil, a esporotricose humana não é uma doença de notificação compulsória, e por isso, a sua exata prevalência é desconhecida. Entretanto, desde julho de 2013, devido ao status hiperendêmico da esporotricose no Rio de Janeiro, a doença se tornou de notificação obrigatória no estado através da Resolução SES nº 674 de 12/07/2013 ⁵⁸. Em 2014, diante da Portaria GM/MS nº 1.271 de 6 de junho de 2014, em seu artigo 2º, parágrafo IV, que inclui epizootia na lista de doenças de notificação compulsória nacional, a esporotricose passa a ser uma doença de agravo nacional e, portanto, todos os casos animais suspeitos deverão ser notificados e registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) [através do preenchimento da ficha de epizootia ⁵⁹ - **Apêndice A**].

2.4 ESPOROTRICOSE ZONÓTICA

O gato doméstico é a principal espécie implicada na transmissão zoonótica de *Sporothrix* spp., e os mamíferos da família *Dasypodidae* (Tatu) são a segunda espécie geralmente envolvida neste tipo de transmissão. Adicionalmente, há relatos de transmissão da doença através de mordidas ou arranhaduras de outros animais como ratos, ratazanas, esquilos, cavalos e cães, embora sem um potencial zoonótico significativo ⁶⁰.

Gatos com esporotricose são uma fonte comprovada de infecção, demonstrada pelo isolamento do fungo em lesões cutâneas (100%), cavidades nasais (66,2%), unhas (39,5%) ⁶¹, cavidade oral (50%) e mucosa conjuntival (44,1%) ⁶².

A esporotricose animal e a transmissão zoonótica de *Sporothrix* spp. eram consideradas raras até a década de 1990. O primeiro registro da doença humana relacionado a gato infectado foi descrito em 1952 nos Estados Unidos ⁶³. Não houve relatos da transmissão zoonótica por felinos até 1982, quando um surto envolvendo seis pessoas expostas a um gato doente foi descrito por Read e Sperling ⁶⁴. Em seguida, sucessivos relatos de diferentes regiões geográficas têm caracterizado um novo grupo de risco para aquisição de esporotricose, composto por donos de gatos, veterinários e seus auxiliares ⁶⁰.

Além do Brasil, a esporotricose zoonótica associada a gatos doentes foi descrita em casos isolados ou em surtos nos Estados Unidos ^{65,66}, Malásia ^{67,68}, México ⁶⁹, Índia ⁷⁰ e Argentina ⁷¹.

O Rio de Janeiro é considerado atualmente como local hiperendêmico para esporotricose associada a transmissão por gatos doentes ⁷². Outras regiões do país também apresentam casos de esporotricose felina e transmissão zoonótica, porém em dimensões menores. Além do Rio de Janeiro, Minas Gerais⁷³, São Paulo, Espírito Santo, Brasília e Rio Grande do Sul concentram as publicações relacionadas à doença com caráter zoonótico ³⁰.

Nos EUA, no período de 1983 a 1993 foram relatados 15 casos de transmissão zoonótica relacionada a gatos ⁶⁵. Somente em 2011 outro caso humano foi descrito e a

transmissão foi atribuída a seu gato, que fora diagnosticado previamente m esporotricose. A paciente negava qualquer trauma e a transmissão do co *Sporothrix* spp. através da pele íntegra foi sugerido devido ao estreito contato da paciente com o animal⁶⁶.

No México, uma paciente do sexo feminino de 43 anos foi diagnosticada com esporotricose linfocutânea após arranhadura do seu gato, o qual também apresentava lesões cutâneas ⁶⁹.

Na Índia, um caso de possível transmissão zoonótica foi reportado por Yegneswaran e colaboradores ⁷⁰. Embora o paciente tenha apresentado histórico de jardinagem, amostras foram coletadas de lesões em seu antebraço e cotovelo, ocorrendo o isolamento e identificação de *S. schenckii sensu stricto*. Além disso uma investigação da lesão ulcerada do gato foi realizada.

A esporotricose humana na Malásia tem sido registrada desde 1990 e relacionada primariamente ao contato com gatos doentes ^{67, 68}. Mais recentemente, Kano e colaboradores ³⁹ realizaram a identificação molecular dos isolados sendo estes caracterizados como *S. schenckii sensu stricto*.

Entre 2011 e 2014, quatro casos humanos foram diagnosticados em Buenos Aires, Argentina, com transmissão atribuída a gatos doentes ⁷¹.

No Uruguai, a caça de tatus tem sido associada à esporotricose. Conti Diaz ⁷⁴ relatou 138 casos da doença ao longo de 16 anos, com 81% dos casos associados ao contato com tatus. Embora esta ocorrência tenha sido raramente relatada no Brasil, foram descritos dez casos envolvendo esta prática, observados em várias cidades das regiões centro e oeste do Estado do Rio Grande do Sul ⁷⁵.

2.5 ESPOROTRICOSE FELINA

Os gatos são os animais mais propensos a adquirirem essa doença, devido às suas características comportamentais, como esfregar-se no solo, hábitos de caça, brigas e suas incursões em áreas fora do perímetro domiciliar ⁷⁶. Além disso, os gatos têm por hábito enterrar suas fezes e afiar suas unhas nas árvores, o que poderia contribuir para a contaminação ambiental. Adicionalmente, gatos com lesão cutânea ao “se lamberem” frequentemente podem indiretamente colonizar a cavidade oral e trato digestivo⁷⁷, tornando a mordedura eficaz para implantação profunda do fungo em outros animais e seres humanos ³⁵.

O perfil da população de gatos com esporotricose permaneceu inalterado desde os primeiros relatos da doença. Os gatos machos, jovens - adultos, não castrados e com acesso à rua, são os mais acometidos e envolvidos na dispersão do fungo, transmitindo-o a outros animais e seres humanos ^{77, 78}.

A esporotricose felina apresenta um amplo aspecto clínico, variando desde uma infecção subclínica, passando por lesão cutânea única até formas múltiplas e sistêmicas, acompanhadas ou não de sinais extracutâneos ⁴.

Clinicamente, as lesões cutâneas são caracterizadas especialmente por nódulos e úlceras e podem ser encontradas em diferentes sítios anatômicos, especialmente na cabeça, região nasal e membros ⁴. A presença de sinais respiratórios concomitantemente a lesões cutâneas é frequente em gatos com esporotricose, principalmente sob a forma de espirros, que pode estar associada a lesões localizadas na mucosa nasal ⁶⁰. Nos maiores estudos sobre esporotricose felina realizados no INI, os sinais respiratórios foram observados em 40% dos animais. A presença desses sinais está associada a falha terapêutica e óbito ⁷⁹.

Ao contrário das lesões observadas em humanos, as lesões cutâneas em felinos quando verificadas ao exame histopatológico apresentam alta carga fúngica, baixa formação de granulomas e ausência de corpos asteroides, demonstrando a susceptibilidade desta espécie frente a *Sporothrix* spp. ⁸⁰.

Na esporotricose felina o amplo espectro de manifestações clínicas, a gravidade da doença e os baixos índices de cura clínica observados na endemia do Rio de Janeiro podem estar associados à espécie fúngica. Em 2015, foi possível caracterizar 47 isolados clínicos dentro do complexo *Sporothrix* com amostras provenientes de gatos atendidos no Lapclin-Dermzoo. Nos testes fenotípicos, 35 isolados foram caracterizados como *S. brasiliensis* e 12 não apresentaram perfil compatível com nenhuma espécie do complexo, sendo classificadas como *Sporothrix* spp. Entretanto, a técnica de PCR T3B fingerprinting permitiu que todos os isolados fossem caracterizados como *S. brasiliensis*⁸¹.

Além da carga fúngica, a presença de acentuado infiltrado inflamatório piogranulomatoso, extensão das lesões para a mucosa, e a forma disseminada da doença são um indicativo da alta virulência do agente circulante na área endêmica do Rio de Janeiro^{82, 83}.

Segundo Miranda e colaboradores⁸⁴, outros fatores além da virulência do fungo podem possibilitar a ocorrência da doença grave em gatos, mesmo na ausência de fatores imunossupressores. Nesse estudo, o aumento da carga fúngica foi relacionado a granulomas mal formados nos gatos com esporotricose, sugerindo que a resposta imune celular possa estar envolvida no controle da doença, portanto, animais que apresentaram bom estado geral, lesões localizadas, resposta bem organizada e carga fúngica baixa estavam com níveis aumentados de células CD4+, enquanto os animais com uma condição geral ruim, lesões disseminadas e carga fúngica alta estavam relacionados à existência de um padrão de resposta com aumento de células CD8+.

2.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico definitivo da doença é feito pelo isolamento de *Sporothrix* spp. a partir de secreção ou fragmento de lesão em cultura micológica. O aparecimento de colônias após semeadura do fungo em ágar Sabouraud dextrose ou Agar-Mycosel a 25°C pode ocorrer entre 5 dias até 4 semanas²⁵.

A forma miceliana cresce a 25°C rapidamente, em torno de 3 a 5 dias. Suas colônias têm coloração creme e micélios aéreos visíveis. Com o crescimento, sua superfície torna-se enrugada, de coloração acastanhada e enegrecida. Quando o crescimento se dá a 37°C, obtém-se conversão térmica da forma filamentosa para a forma leveduriforme em BHI, com colônias cremosas e de coloração pardacento-amarelada estabelecendo o diagnóstico definitivo ^{24, 85}. A técnica de cultura caracteriza o fungo como *Sporothrix* spp. ou *S. schenckii lato sensu*. Para a caracterização das espécies torna-se necessária a aplicação de técnicas morfológicas, fisiológicas e moleculares ²⁸.

Em virtude da alta carga fúngica em lesões cutâneas de gatos com esporotricose, observamos no exame citopatológico inúmeras estruturas leveduriformes redondas, ovais ou em forma de charuto, circundadas por um halo claro, no interior de macrófagos, neutrófilos ou no meio extracelular ⁸⁶. A positividade no exame citopatológico proveniente de lesões cutâneas de gatos com diagnóstico de esporotricose foi descrita por Pereira e colaboradores ⁸⁶ em 78,9% dos casos e por Silva e colaboradores ⁸⁷ em 84,9% dos casos, reforçando que este exame é um método rápido, prático e de baixo custo para diagnóstico presuntivo da esporotricose felina. O exame citopatológico é recomendado principalmente em áreas endêmicas e onde exista dificuldade em se realizar a cultura fúngica, permitindo dessa forma, a implementação de medidas preventivas e de controle desta zoonose.

O exame histopatológico também é utilizado como diagnóstico presuntivo da esporotricose felina, podendo-se observar um infiltrado inflamatório na derme, composto por células mononucleares e polimorfonucleares, predominantemente macrófagos e neutrófilos além de estruturas leveduriformes, redondas ou em forma de charuto. Os métodos de coloração mais indicados para a visualização de fungos são: impregnação pela prata de Grocott em cortes de parafina e ácido periódico de Schiff (PAS) ^{80, 83}.

As lesões de esporotricose são caracterizadas microscopicamente por processos granulomatosos supurativos. Em felinos, o perfil histopatológico apresenta-se como granulomas mal formados com predomínio de macrófagos ⁸⁴.

A técnica de imuno-histoquímica (IQH) é um método de diagnóstico complementar, rápido e reprodutível que pode ser aplicado para melhorar a sensibilidade do diagnóstico histológico, principalmente nas amostras humanas e caninas ⁸⁸. A avaliação da IQH frente às amostras de gatos com esporotricose se mostrou sensível, com positividade entre 94% ⁸⁹ e 88% ⁹⁰. Essa técnica foi capaz de detectar estruturas leveduriformes compatíveis com *Sporothrix* spp. baseada na ligação antígeno-anticorpo, facilitando a visualização em cortes histológicos, uma vez que a coloração acastanhada foi atribuída a célula leveduriforme, contrastando com a cor azul do tecido.

O método de ensaio imunoenzimático (ELISA- “Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”) pode ser utilizado como uma ferramenta de triagem devido a sua sensibilidade e especificidade para a detecção de anticorpos de *Sporothrix* spp. no soro de gatos com esporotricose ⁹¹. Este método é considerado de fácil realização, rápido e barato, mas sua aplicação na rotina diagnóstica ainda não foi estabelecida.

Técnicas de diagnóstico molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR – “Polymerase Chain Reaction”), são descritas por diversos autores como uma ferramenta para o diagnóstico rápido da esporotricose, que quando disponíveis podem ser uma alternativa ao diagnóstico em casos específicos. Rodrigues e colaboradores ⁹² desenvolveram *primers* específicos para a identificação das espécies de *S. brasiliensis*, *S. schenckii*, *S. globosa*, *S. mexicana*, *S. pallida*, e *Ophiostoma stenocereus* a partir de isolados de cultura. Além disso, detectaram com sucesso o DNA de *S. brasiliensis* e *S. schenckii* em amostras de tecidos derivados de um modelo murino com esporotricose disseminada, concluindo que estes *primers* espécie-específicos podem ser aplicados na epidemiologia, diagnóstico clínico e estudos experimentais da esporotricose e que, as melhorias nos sistemas primários de diagnóstico e vigilância poderiam facilitar a identificação e o rápido controle de futuros surtos.

2.7 BOAS PRÁTICAS RELACIONADAS À MANIPULAÇÃO DE *SPOROTHRIX SP.*

Sporothrix schenckii é um agente biológico integrante da classe de risco 2 e deve ser manipulado seguindo-se as orientações designadas para um laboratório com nível de biossegurança 2 ^{93, 94}. O profissional responsável pelo ambiente onde há manipulação desse agente deve garantir o cumprimento das diretrizes relacionadas ao nível de biossegurança específico, promovendo a conscientização e o treinamento de todo pessoal envolvido ⁹⁵.

As principais recomendações para a manipulação de gatos com suspeita de esporotricose são:

- i. Utilizar Equipamento de Proteção Individual (EPI) obrigatório: avental descartável de manga longa com elástico no punho e Luvas de procedimento descartáveis;
- ii. Realizar contenção física e/ou química no atendimento dos animais;
- iii. Seguir as principais diretrizes de boas práticas laboratoriais:
 - Usar calçados fechados;
 - Manter os cabelos presos ou recobertos por touca descartável e as unhas curtas;
 - Lavar as mãos antes de iniciar o trabalho, após o uso de luvas e ao sair da sala de atendimento;
 - Não tocar em superfícies limpas utilizando luvas;
 - Não recapear agulhas;
 - Fazer o descarte dos perfurocortantes em local apropriado;
 - Descartar material contaminado com sangue e secreções em saco de lixo branco leitoso com símbolo de risco biológico;
 - Realizar a incineração das carcaças dos animais que vierem a óbito;

- Em caso de acidente, lavar a pele com água e sabão e procurar atendimento médico.
- iv. Esterilizar todo instrumental cirúrgico em autoclave a 121°C por 20 a 30 minutos.
- v. Descontaminar o ambiente, equipamentos e artigos utilizados no atendimento com hipoclorito de sódio 1% por 10 minutos.

Em relação aos agentes desinfetantes, tanto o hipoclorito de sódio quanto o digluconato de clorexidina apresentam ação antifúngica *in vitro* frente a isolados de *S. schenckii*. Entretanto, o hipoclorito de sódio apresentou melhores resultados, com inativação total da carga fúngica na ausência de matéria orgânica e redução de 60% da carga fúngica na presença desta ⁹⁶.

2.8 ASPECTOS TERAPÊUTICOS

O tratamento da esporotricose felina permanece um desafio e requer cuidados diários a longo prazo. O prognóstico para os gatos doentes dependerá do número, extensão e localização das lesões; assim como a ocorrência de sinais respiratórios e do estado geral do animal ⁸². A presença da infecção pelos vírus da imunodeficiência felina (FIV) e da leucemia felina (FeLV), anteriormente considerados como fator de gravidade e de prolongamento do tratamento da esporotricose felina ⁹⁷, não foram associados até o momento ao desfecho negativo em gatos provenientes da epidemia do Rio de Janeiro ^{4, 79, 98}.

A administração oral do fármaco aliada ao longo tempo de tratamento (mediana entre 4 e 9 meses) ^{4, 79} constitui um entrave para a adesão dos responsáveis. A cicatrização das lesões parece ser um determinante importante para o abandono do tratamento, já que os responsáveis pelos gatos consideram que nesse momento o

animal não requer mais "cuidados especiais" e interrompem a medicação, não comparecendo as consultas para o acompanhamento clínico, aumentando assim a chance de recorrência da doença e acrescentando obstáculos ao processo de cura ⁹⁹.

Iodetos, cetoconazol, ITZ, anfotericina B, terbinafina, termoterapia local e a remoção cirúrgica de lesões são as opções terapêuticas disponíveis para o tratamento da esporotricose felina ¹⁰⁰, além da criocirurgia ¹⁰¹. Os iodetos e o ITZ são os fármacos mais utilizados atualmente, sendo o ITZ o fármaco de escolha ⁸². A remissão das lesões cutâneas e/ou mucosas, assim como dos sinais extracutâneos sem o tratamento antifúngico específico é rara ⁶⁰. Reinfecções exógenas e recidivas podem ocorrer após a cura clínica demonstrando a possibilidade de reativação das lesões mesmo quando o tratamento recomendado foi concluído ⁹⁹.

2.8.1 Iodetos

O uso de iodetos na esporotricose foi descrito em 1903 por Sabouraud ²⁴ e durante muitos anos estes compostos foram considerados a terapia de eleição na esporotricose cutânea e linfocutânea em humanos devido ao baixo custo e efetividade ^{102, 103}. O KI pertence ao grupo químico dos iodetos inorgânicos, constituído de 76% de halogênio-iodo e 23% de metal alcalino potássio ¹⁰³. É um composto fotossensível e possui propriedades ligeiramente higroscópicas, sendo altamente solúvel em água ¹⁰². Após sua ingestão, é rapidamente absorvido pelo trato intestinal e distribuído para o espaço extracelular, com 90% da dose administrada por via oral excretada na urina. Suor, leite materno e fezes são outras formas de excreção ¹⁰³.

O mecanismo de ação dos iodetos permanece desconhecido, mas acredita-se que o KI atue através da modulação da resposta inflamatória ¹⁰⁴ e aumento da resposta imune ¹⁰⁵. Demonstrações *in vitro* sugeriram que pode haver dano celular da levedura através da conversão de KI em iodo ¹⁰⁴. Essa conversão por alguma via desconhecida e em concentrações adequadas poderia lesionar a levedura *in vivo* ¹⁰⁴. Em 1990, Honma e colaboradores estudaram os efeitos de KI (15mg/kg/3dias) em pacientes saudáveis. Neste estudo, KI inibiu significativamente a quimiotaxia de neutrófilos no

sangue periférico. No entanto, não foi possível explicar qual parte da quimiotaxia foi alterada pelo KI ^{103, 106}. Especula-se que o iodo participe de reações de halogenação por mieloperoxidasas, que são fundamentais para a ação dos fagócitos ¹⁰³. Este mecanismo também ajuda a compreender, em parte, a utilidade do fármaco contra doenças infecciosas ¹⁰⁴.

No Brasil, o primeiro relato da terapia com KI na esporotricose felina ocorreu em 1956 ²⁰. Deste relato até o ano de 2011, apenas dois estudos descreveram o uso da solução saturada de iodeto de potássio (SSKI) em gatos com esporotricose. A cura clínica foi obtida em dois gatos com a dose de 20 mg/kg, a cada 24 horas ^{107, 108} e em dois gatos a terapia foi interrompida devido à progressão das lesões ^{107, 109}. A dose de SSKI recomendada na literatura veterinária é de 20 mg/kg a 40 mg/kg, a cada 12 ou 24 horas ^{77, 108, 109}.

A solução saturada de iodeto de potássio é a apresentação farmacêutica utilizada em pacientes humanos, porém o regime posológico e as reações adversas, como o gosto metálico, são fatores de não adesão ao tratamento ^{110, 111}. Como em humanos, a ingestão da solução saturada em gatos é difícil. Tendo em vista esse cenário aliado à necessidade de avaliar a efetividade desse fármaco em outra apresentação farmacêutica, Reis e colaboradores ⁹⁸ descreveram o uso do KI em cápsulas na dose de 2,5 a 20 mg/kg a cada 24 horas em 48 gatos com esporotricose. A cura clínica foi obtida em 47,9% dos casos, em 37,5% ocorreu falência terapêutica, 10,4% abandonaram o tratamento e 4,2% foram a óbito. Reações adversas clínicas foram observadas em 52,1% dos casos. Treze gatos apresentaram leve aumento nos níveis das transaminases hepáticas durante o tratamento, dos quais, seis apresentavam sinais clínicos sugestivos de hepatotoxicidade. Esse estudo constitui até o momento a maior casuística de gatos tratados com esse composto.

A utilização do iodeto de sódio (NaI) no tratamento da esporotricose felina é rara e foi descrita em poucos relatos de casos. A formulação clássica utilizada compreende a solução saturada na dose de 10 mg/kg a cada 12 horas ¹¹². Entre 1982 e 2009, 32 gatos com esporotricose foram tratados com NaI em diferentes doses ^{4, 109, 113-116}, sendo a cura clínica relatada em 6 casos por Schubach e colaboradores ⁴ e um outro caso por Burke e colaboradores ¹¹³.

Recentemente, o estudo realizado por Carvalho ¹¹⁷ descreveu a efetividade do Nal em cápsulas na dose de 5 mg/kg a cada 24 horas em 21 gatos com esporotricose sem tratamento prévio. O percentual de cura e falha terapêutica foram de 28,6% e 61,9%, respectivamente. Dois animais (9,5%) foram a óbito por causas desconhecidas e a dose foi aumentada para 10 mg/kg em 33,3% dos casos. Dez gatos (47,6%) apresentaram reações adversas clínicas e três animais (14,2%) apresentaram alteração no perfil renal.

Os felinos são sensíveis às preparações de iodetos e devem ser cuidadosamente monitorados em busca de evidências de iodismo, como depressão, anorexia, vômito ou diarreia ¹¹⁸. Alterações cardíacas foram associadas ao tratamento com iodeto de sódio com doses mais elevadas (40 mg/kg a cada 12h) ¹¹³. Em caso de intolerância, o fármaco pode ser suspenso temporariamente e reinstituído em doses mais baixas sem subseqüentes efeitos adversos ^{98, 107, 111}.

2.8.2 Azólicos

Os antifúngicos azólicos são amplamente utilizados para o tratamento de infecções fúngicas superficiais e invasivas e incluem as três gerações de imidazóis e triazóis ¹¹⁹. São caracterizados por um anel pentagonal na estrutura molecular, o qual contém três átomos de carbono e dois de nitrogênio (imidazólicos), ou dois de carbono e três de nitrogênio (triazólicos) ¹²⁰.

Atuam com base na inibição da biossíntese do ergosterol, que é essencial na biorregulação da fluidez, assimetria e integridade celular ¹²¹. Os efeitos adversos produzidos pelo uso desses fármacos são droga-dependente e incluem distúrbios gastrintestinais e endócrinos, hepatotoxicidade, e irritação da pele ¹²².

2.8.2.1 Cetoconazol

O cetoconazol é um derivado imidazólico que surgiu em 1979 e é utilizado desde então para o tratamento de micoses superficiais e sistêmicas ¹²³. Por apresentar baixa toxicidade seletiva, inibe tanto o citocromo P450 do fungo, quanto dos mamíferos, resultando na ocorrência de elevada toxicidade hepática ¹²⁴.

A dose clássica recomendada para o tratamento da esporotricose felina varia de 5 a 10 mg/kg, a cada 24 horas ¹¹². Entretanto, em caso de falhas, doses maiores (13,5-27 mg/kg, a cada 12 ou 24 horas) podem ser utilizadas ⁷⁹.

Pereira e colaboradores ⁷⁹ avaliaram a efetividade e segurança do tratamento com cetoconazol oral na dose de 13,5 a 27 mg/kg. Dos 598 gatos tratados com esse esquema terapêutico, 171 (28,6%) obtiveram a cura em 28 semanas de tratamento (mediana). Efeitos gastrointestinais foram observados em 42% dos gatos.

O cetoconazol foi substituído pelo ITZ no tratamento da esporotricose, mas por se tratar de um fármaco de baixo custo, pode ser usado no tratamento de cães e gatos, especialmente em áreas economicamente desfavorecidas ¹⁰⁰.

2.8.2.2 Itraconazol

O ITZ foi sintetizado na década de 1980 e é 5-100 vezes mais potente *in vivo* que o cetoconazol, embora seu mecanismo de ação seja similar. É um derivado triazólico que apresenta atividade fungistática, mas pode ter ação fungicida dependendo da concentração administrada e da susceptibilidade do fungo, além de possuir alta seletividade às enzimas do citocromo P-450 fúngico, resultando em menor ocorrência de efeitos adversos em comparação ao cetoconazol ^{125, 126}.

O ITZ é uma substância altamente lipofílica, extensamente ligada a proteínas circulantes, mas praticamente insolúvel a um pH fisiológico. Para ser absorvido, deve dissolver-se no trato gastrointestinal, o que pode ser problemático. No entanto, uma vez

dissolvido é altamente permeável e facilmente difundido através do epitélio intestinal ^{127, 128}.

Existem três formulações disponíveis para uso clínico: cápsulas, solução oral e administração intravenosa. A formulação da cápsula original é fabricada pela Janssen-Cilag Farmacêutica e comercializada como Sporanox®, todavia, no Brasil há uma grande variedade de laboratórios que produzem o medicamento genérico. A suspensão oral e formulação intravenosa, também fabricadas pela Janssen, são ambas formuladas com hidroxipropil- β -ciclodextrina ¹²⁷, porém não são comercializadas no Brasil. As ciclodextrinas naturais, e alguns derivados como a hidroxipropil- β -ciclodextrina, são metabolizadas ao nível do cólon e do ceco pelas bactérias da flora intestinal ¹²⁹.

A absorção oral da cápsula de ITZ é variável, porém é facilitada por um meio ácido para dissolução, o qual constitui a base para recomendar sua administração junto com alimentos ou bebidas ácidas ^{123, 127}. Dessa forma, a biodisponibilidade das cápsulas duplica quando administrado após a refeição. Por outro lado, sua absorção é prejudicada pela administração com agentes que aumentam o pH gástrico (inibidores da bomba de prótons), ou em pacientes com acloridria ^{123, 127}.

A suspensão oral de ITZ é absorvida de forma mais eficiente, aumentando a biodisponibilidade do fármaco em 30% quando comparada à formulação em cápsulas. Além disso, a terapia antiácida não exerce um efeito negativo sobre a sua absorção e esta formulação deve ser administrada em jejum, pois alimentos podem diminuir suas concentrações séricas ¹²³.

O ITZ intravenoso é utilizado em micoses sistêmicas graves envolvendo risco de morte e permite que a concentração-alvo (>0,5 mg/L) seja alcançada nas primeiras 48 horas de tratamento ¹²⁷.

Os picos de concentração plasmática do ITZ são atingidos 2 a 5 horas após sua administração oral. Por apresentar uma farmacocinética não linear, o itraconazol se acumula no plasma durante a administração de doses múltiplas e suas concentrações no estado de equilíbrio são geralmente alcançadas em 15 dias. Após a interrupção da terapia, a concentração plasmática do fármaco diminui para uma concentração quase indetectável em 7 a 14 dias, porém suas concentrações são detectáveis na pele por até 4 semanas pós-interrupção ^{127, 130}.

A dose clássica da literatura recomendada para o tratamento da esporotricose felina varia entre 5-10 mg/kg, a cada 24 horas ¹¹². Alguns autores relataram êxito no tratamento com esse esquema terapêutico, porém, esses estudos constituem relatos ou série de casos ^{4, 114, 116, 131, 132}.

O maior estudo publicado em gatos até o momento que avaliou a eficácia e segurança do ITZ foi conduzido por Pereira e colaboradores ⁷⁹, onde 178 gatos com esporotricose receberam ITZ na dose entre 8,3 e 27,7 mg/kg/dia. Desses, 67 (38,3%) obtiveram a cura clínica, com tempo de tratamento de 26 semanas (mediana), demonstrando que os índices de cura ainda estão muito aquém do esperado. Desde então, doses propostas para o tratamento de micoses sistêmicas em gatos são recomendadas para o tratamento da esporotricose felina.

Apesar do ITZ ser considerado o fármaco de escolha para o tratamento da esporotricose felina, casos de falha terapêutica, baixos índices de cura e longo tempo de tratamento são relatados ^{12, 82, 133}.

2.8.3 Anfotericina B

Anfotericina B desoxicolato é um antibiótico macrolídeo poliênico sintetizado naturalmente pelo actinomiceto *Streptomyces nodosus*. Sua principal atividade fungicida tem sido atribuída à sua capacidade para provocar a auto-oxidação da membrana citoplasmática e a liberação de radicais livres letais ¹¹⁰.

Mesmo com a sua elevada toxicidade e a introdução de antifúngicos azólicos sistêmicos na década de 1980, a potência e o espectro de ação têm assegurado que a anfotericina B permaneça como fármaco de escolha no tratamento da esporotricose disseminada, assim como da maioria das micoses sistêmicas que acometem pacientes imunocomprometidos ^{110, 134}.

A anfotericina B, administrada por via subcutânea ou intralesional, também é recomendada no tratamento da esporotricose felina refratária ao ITZ ¹³³. A associação de ITZ oral (100 mg/dia) e anfotericina B 0,5 mg/kg via subcutânea foi utilizada no

tratamento de 17 gatos com esporotricose refratária ao tratamento com azólicos. A cura clínica ocorreu em 35,3% dos casos e a formação de abscesso estéril local ocorreu em 23,5% ¹³⁵. Em outro estudo, 26 gatos com lesões cutâneas refratárias ao ITZ foram tratados com a associação de anfotericina B intralesional e ITZ oral com cura clínica em 72,7% dos casos ⁸².

As formulações lipídicas da anfotericina B são menos nefrotóxicas que a forma convencional e seu uso é indicado para o tratamento das formas disseminadas de esporotricose. Anfotericina B lipossomal via intravenosa foi utilizada em associação ao itraconazol em gatos com esporotricose refratária à associação de ITZ e KI, entretanto, nenhum animal obteve a cura clínica com esse esquema terapêutico ¹³⁶.

2.8.4 Terbinafina

A terbinafina é um antifúngico do grupo das alilaminas, efetiva no tratamento da esporotricose cutânea e linfocutânea em seres humanos ^{137, 138}, com custo similar ao fármaco de eleição (ITZ). Esse fármaco tem demonstrado boa atividade *in vitro* frente a *S. schenckii*, inibindo a enzima epoxidase e alterando a biossíntese dos esteróis fúngicos, com conseqüente morte da célula fúngica. A inibição da enzima não é mediada através do citocromo P-450, que a diferencia dos azólicos, não afetando os níveis de cortisol e testosterona, ainda que administrada em altas doses ¹³⁸.

Na medicina veterinária, o fármaco tem sido efetivo no tratamento das dermatofitoses e outras infecções micóticas superficiais ^{112, 139} mas sua efetividade *in vivo* frente a esporotricose felina ou canina ainda não foi comprovada. No entanto, este fármaco apresentou alta atividade *in vitro* frente a isolados de *S. brasiliensis* provenientes de gatos da região epidêmica do Rio de Janeiro em comparação a anfotericina B, cetoconazol e ITZ ¹⁴⁰.

2.8.5 Termoterapia

Em 1950, descobriu-se acidentalmente a remissão espontânea de lesões de esporotricose após um paciente apresentar febre ¹⁴¹. Temperaturas acima de 37°C inibem o crescimento de espécies de *Sporothrix* e promovem o aumento da capacidade dos neutrófilos em causar morte intracelular ⁶.

A termoterapia é recomendada no tratamento da forma cutânea da esporotricose, em associação com antifúngicos ou como monoterapia nos casos em que estes são contraindicados, tais como a gravidez. A terapia através de calor local (42°C) deve ser realizada na lesão por 30 minutos, duas vezes ao dia, até sua cicatrização. Poucos são os relatos sobre sua utilização na esporotricose humana e felina e sua efetividade permanece pouco avaliada ^{110, 141}. Em estudo conduzido por Hiruma e colaboradores ¹⁴², a termoterapia foi usada em 14 pacientes com esporotricose cutânea-fixa e linfocutânea e a cura clínica foi obtida em 71% dos casos.

Honse e colaboradores ¹⁴³ descreveram o uso da hipertermia local no tratamento de um gato com esporotricose, o animal apresentava uma única lesão cutânea na região torácica e era cooperativo. A cura foi obtida após aplicação, pelo responsável pelo animal, de uma bolsa térmica com temperatura de 40-42°C no local da lesão por 15 minutos duas vezes ao dia durante sete semanas, sendo portanto uma opção terapêutica aos gatos com esporotricose que se demonstrem cooperativos e que apresentem a forma cutânea fixa da doença.

2.8.6 Associação entre itraconazol e iodeto de potássio

A associação entre ITZ e KI vem sendo utilizada no decorrer da última década para o tratamento da esporotricose humana, felina e em outras infecções fúngicas ^{7, 9, 10, 12, 54}.

Na esporotricose humana refratária ao ITZ, relatos de sucesso com a associação dos fármacos foram descritos ^{8, 11}.

Em 2009, um estudo comparativo avaliou a efetividade e segurança do KI associado ao ITZ. A associação dos fármacos apresentou maior percentual de cura clínica (91,67%) em relação à monoterapia com KI (54,55%) e monoterapia com ITZ (64%). Não houve diferença entre os grupos no que diz respeito a reações adversas⁹.

Mais recentemente, Song e colaboradores⁵⁴ descreveram em seu estudo a maior casuística de pacientes humanos (n=83) com esporotricose tratados com associação de ITZ e KI. Os mesmos autores não observaram diferenças estatísticas significativas entre as taxas de cura e tempo de tratamento dos pacientes tratados com a monoterapia com ITZ, KI ou com a associação dos fármacos.

O sucesso da associação dos fármacos também foi descrito para outras infecções fúngicas em seres humanos, como a zigomicose e conidiobolomicose^{7, 10}.

Em felinos, a associação dos fármacos foi descrita por Rocha¹², que avaliou a resposta terapêutica ao KI em cápsulas (5 mg/kg, a cada 24 horas) associado ao ITZ (100 mg, a cada 24 horas) em gatos com esporotricose refratária ao triazólico. Dentre os 38 gatos incluídos no estudo, 63,2% obtiveram a cura e 13,2% não apresentaram resolução das lesões (falha terapêutica). Efeitos adversos clínicos (73,2%) como emagrecimento, hiporexia e vômito foram os mais observados. O tempo mediano de tratamento até a cura clínica foi 20 semanas. Dessa forma, a associação dos fármacos se mostrou efetiva em gatos não responsivos à monoterapia com ITZ.

3 JUSTIFICATIVA

A esporotricose zoonótica constitui um grave problema de saúde pública no Brasil, especialmente no Rio de Janeiro, onde um número crescente de casos humanos e animais vem sendo reportado desde 1998.

O protocolo terapêutico convencional preconizado (ITZ) para a esporotricose felina tem demonstrado efetividade variável e relatos de falha terapêutica têm sido descritos. Os resultados satisfatórios alcançados com a monoterapia com iodeto de potássio em gatos sem tratamento prévio com antifúngicos⁹⁸ e em gatos refratários ao ITZ tratados com a associação ITZ e KI¹², motivaram a elaboração de um ensaio clínico em que a comparação entre o grupo controle (ITZ) e o grupo de associação dos fármacos (ITZ e KI) poderá fornecer informações sobre a efetividade dos tratamentos, e de suas reações adversas. Desta forma, o estudo de gatos doentes provenientes da epizootia em curso no estado do Rio de Janeiro constitui uma oportunidade para ampliar o conhecimento sobre os aspectos terapêuticos desta micose.

Em termos de saúde pública, a associação entre ITZ e KI poderá aumentar os percentuais de cura clínica, reduzir o tempo de tratamento e de recidivas quando comparado à monoterapia com o triazólico, contribuindo indiretamente para a diminuição dos riscos da transmissão do agente etiológico para humanos e outros animais.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Comparar a resposta terapêutica de gatos com esporotricose submetidos ao tratamento com ITZ e associação de ITZ e KI, atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever as características clínicas e epidemiológicas dos gatos submetidos ao tratamento com ITZ e associação de ITZ e KI;
- Descrever as reações adversas clínicas e laboratoriais nos gatos submetidos ao tratamento nos dois grupos;
- Comparar o tempo de tratamento, o percentual de cura e de recidivas entre os dois grupos.

5 METODOLOGIA

5.1 DEFINIÇÃO DOS TERMOS UTILIZADOS

- Abandono: não comparecimento em duas revisões consecutivas;
- Alta: suspensão definitiva do(s) fármaco(s) um mês após a cura clínica;
- Cicatrização da lesão: epitelização com ausência de crostas, descamação, infiltração e eritema;
- Cura clínica: cicatrização completa da lesão e remissão de todos os sinais clínicos inicialmente apresentados;
- Estagnação do quadro clínico: ausência de resposta clínica por 30 dias consecutivos;
- Falha terapêutica: estagnação do quadro clínico em duas revisões consecutivas (dois meses), piora do quadro independente do tempo de tratamento;
- Interrupção temporária do protocolo: Gatos que apresentaram reações adversas clínicas (anorexia ou hiporexia + perda de 10% peso corporal) ou a associação destes com a elevação das transaminases hepáticas tiveram a terapia interrompida temporariamente por no mínimo sete dias (ITZ) e dez dias (KI). A interrupção máxima prevista neste protocolo foi estipulada em 30 dias;
- Interrupção definitiva do protocolo: retirada definitiva dos fármacos por fatores explicitados no item 5.12;

- G1: Grupo ITZ;
- G2: Grupo associação ITZ e KI;
- L1: Lesões cutâneas em um sítio anatômico;
- L2: Lesões cutâneas em dois sítios anatômicos não contíguos;
- L3: Lesões cutâneas em três ou mais sítios anatômicos não contíguos;
- Melhora clínica: diminuição do tamanho e/ou do número de lesões nos gatos com esporotricose;
- Óbito por esporotricose: óbito ocasionado por complicações diretamente relacionadas à esporotricose;
- Óbito por outras causas: óbito não ocasionado diretamente pela esporotricose;
- Recidiva: reaparecimento da lesão no mesmo local do processo anterior no período que corresponde ao tempo de seguimento pós-terapêutico (três meses);
- Reinfecção exógena: aparecimento de nova lesão em local diferente do processo anterior, no período que corresponde ao tempo de seguimento pós-terapêutico (três meses).
- Resposta clínica insatisfatória: ausência de melhora clínica mínima por 30 dias consecutivos.

5.2 DESENHO DO ESTUDO

Ensaio clínico randomizado e aberto.

5.3 CASUÍSTICA

A população do estudo foi constituída de gatos com esporotricose que preencheram os critérios de inclusão citados no item 5.5 e cujos responsáveis concordaram em participar do procedimento (firmando o termo de consentimento livre e esclarecido – **ANEXO A**) no período compreendido entre janeiro de 2013 e maio de 2016.

5.4 CÁLCULO AMOSTRAL

O tamanho amostral necessário para afirmar diferença significativa de cura entre os dois tratamentos é de 59 animais em cada braço de estudo, considerando diferença na proporção de cura entre os tratamentos de 25%, nível de significância de 5% e poder de 80%. Devido às perdas, o número foi aumentado em 20%, o equivalente a 74 animais em cada grupo.

5.5 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

- Diagnóstico definitivo de esporotricose, por isolamento de *Sporothrix* spp. em meio de cultura;
- Pacientes com idade superior a 6 meses e inferior a 8 anos;
- Peso mínimo de 3,0 kg na primeira visita.

5.6 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Tratamento prévio com antifúngicos orais;
- Gestantes e nutrízes;
- Presença de alterações clínicas basais, grau 3 (**ANEXO B**).

5.7 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Lapclin-Dermzoo em colaboração com o Serviço de Farmácia (Sefarm), Laboratório de Micologia (Lab-Micol), Laboratório de Análises Clínicas (Labclin): seção de hematologia (SHEM) e bioquímica (SBIOQ), Serviço de Anatomia Patológica e Plataforma de Pesquisa Clínica, todos pertencentes ao INI/Fiocruz.

5.8 PROCEDIMENTOS DE INCLUSÃO E ACOMPANHAMENTO

Os animais foram submetidos a exame clínico geral e coleta de materiais biológicos (sangue, exsudato de lesão cutânea, secreção nasal, *imprint*, biopsia de lesão de pele), além de documentação fotográfica digital.

5.8.1 Exame Clínico

O exame clínico compreendeu a identificação do animal, anamnese e exame físico.

O exame físico consistiu da avaliação do estado clínico geral, palpação de linfonodos, ausculta pulmonar, pesagem do animal e inspeção de mucosas, pelos e pele, com anotações sobre o aspecto clínico, número e a localização das lesões.

Os animais foram categorizados em grupos segundo a distribuição das lesões cutâneas e classificados também quanto ao número de lesões.

Em relação à distribuição das lesões cutâneas, utilizamos a categorização proposta por Schubach e colaboradores⁴ onde os animais foram divididos em: L0 (ausência de lesões), L1 (lesões em um sítio), L2 (lesões em dois sítios não contíguos) e L3 (lesões em três ou mais sítios não contíguos).

Quanto ao número de lesões, estas foram classificadas como: Localizada (de uma a cinco lesões individualizadas) e Múltiplas (mais de cinco lesões individualizadas (Adaptado de Lucas¹⁴⁴).

5.8.2 Coleta de Sangue

A coleta de sangue foi realizada após sedação com cloridrato de quetamina 10% (10 –15 mg/kg) associada ao maleato de acepromazina 1% (0,1 mg/kg) aplicadas por via intramuscular.

Foram coletados 5 mL de sangue total após tricotomia e antissepsia local com álcool 70%, com seringa descartável agulhada (0,70x25 mm) de veia jugular externa, para a realização de hemograma completo e bioquímica sérica (ureia, creatinina, alanina aminotransferase - ALT, aspartato aminotransferase – AST).

5.8.3 Coleta de secreção nasal, exsudato e fragmento de lesão cutânea

Na primeira consulta, exsudato de lesão ou secreção nasal foram coletados através de *swab estéril*, diretamente de lesão cutânea ulcerada ou de uma das narinas e semeados em ágar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol e em ágar Mycosel, para realização da cultura micológica.

Em animais com lesões não sugestivas de esporotricose, também foram coletados dois fragmentos do bordo da lesão com *punch* (3 mm). O primeiro fragmento foi acondicionado em solução salina estéril e encaminhado para a realização da cultura micológica. O outro foi fixado em formalina tamponada 10% e encaminhado para o Serviço de Anatomia Patológica do INI/Fiocruz, para realização do exame histopatológico.

5.8.4 Documentação fotográfica digital

O registro fotográfico digital foi realizado mensalmente durante todo o tempo de tratamento previsto no estudo para identificação do animal e acompanhamento de sua evolução clínica.

5.9 GRUPOS DE TRATAMENTO

A randomização dos grupos foi gerada por uma lista aleatória do tamanho amostral necessário, pelo programa Statistical Package for the Social Sciences 16.0.

Os gatos foram alocados aleatoriamente em dois grupos de tratamento: ITZ 100 mg/gato/24h (G1) ou ITZ 100 mg/gato/24h e KI 2,5 mg/kg/24h (G2). No grupo G2, em caso de resposta clínica insatisfatória, a dose de KI foi progressivamente aumentada mensalmente com incrementos de 2,5 mg/kg até resposta clínica satisfatória ou até atingir 20 mg/kg.

Gatos que apresentaram reações adversas clínicas ou a associação destas com a elevação das transaminases hepáticas tiveram a terapia interrompida temporariamente por um período mínimo de sete dias (ITZ) e de dez dias (KI). O prazo máximo para a interrupção temporária do(s) fármaco(s) foi estipulado em 30 dias. Gatos que apresentaram alteração das transaminases, em associação ou não com reações adversas clínicas receberam tratamento com silimarina 30 mg/kg, uma vez ao dia.

As formas farmacêuticas de ITZ (Prati-Donaduzzi®) e KI (manipulação) utilizadas no estudo foram cápsulas. Os fármacos foram dispensados mensalmente e sem ônus para o responsável pelo animal por meio do Lapclin-Dermzoo, sendo estes orientados a administrar a(s) cápsula(s) diretamente na cavidade oral do animal ou aberta(s), com o conteúdo adicionado ao alimento. Os responsáveis pelos gatos do grupo G2 foram orientados a administrar os dois fármacos no mesmo momento.

5.10 MONITORAMENTO CLÍNICO E LABORATORIAL

Durante o tratamento, o acompanhamento dos animais foi realizado mensalmente através de exames clínico e laboratoriais (hemograma completo e bioquímica) e fotografias digitais. Nas consultas, verificou-se a evolução da cicatrização de cada uma das lesões cutâneas e/ou mucosas, bem como a presença ou ausência de sinais extracutâneos, relacionados à esporotricose, de acordo com cada caso.

O critério adotado para definir a cura clínica foi a cicatrização completa das lesões e remissão de todos os sinais clínicos inicialmente apresentados. Após a cura, os gatos foram tratados por mais um mês, o que correspondeu à alta.

Animais apresentando estagnação do quadro clínico em duas consultas consecutivas (dois meses) ou piora, independentemente do tempo, foram retirados do estudo e mantidos em acompanhamento clínico e terapêutico no Lapclin-Dermzoo, assim como aqueles que apresentaram reações adversas clínicas ou laboratoriais marcantes (**ANEXOS B e C**). O tempo máximo de tratamento previsto para cada grupo foi de 40 semanas.

5.11 CRITÉRIOS PARA A INTERRUPÇÃO TEMPORÁRIA DO PROTOCOLO PREVISTO

- Presença de anorexia ou hiporexia combinada ou não com a perda de mais de 10% peso corporal;
- Presença de anorexia ou hiporexia e elevação das transaminases hepáticas;
- Outras alterações clínicas classificadas como grau moderado (**ANEXO B**).

5.12 CRITÉRIOS PARA A INTERRUPTÃO DEFINITIVA DO PROTOCOLO PREVISTO

- Por decisão do responsável pelo paciente;
- Falha terapêutica;
- Abandono;
- Interrupção temporária do medicamento: > 30 dias consecutivos;
- Interrupção definitiva motivada por alterações clínicas graves (**ANEXO B**) e/ou alteração bioquímica marcante (**ANEXO C**).

5.13 DESFECHOS

- Cura clínica;
- Falha terapêutica;
- Abandono
- Óbito por outras causas;
- Óbito por esporotricose.

5.14 SEGUIMENTO PÓS - TERAPÊUTICO

Os animais que receberam alta foram agendados após três meses para consulta de acompanhamento clínico e laboratorial.

5.15 ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram armazenados em banco de dados informatizado (Epidata v3.1) e analisados com auxílio do programa R v3.2.2.

A análise descritiva dos dados apresentou valores para as frequências simples das variáveis categóricas (sexo, estado geral, localização das lesões, distribuição das lesões cutâneas, sinais respiratórios, reações adversas clínicas, alterações das transaminases e desfecho), além dos valores relacionados às medidas de tendência central para as variáveis quantitativas (idade, peso, tempo de evolução da doença antes do tratamento; tempo de tratamento até a cicatrização e até a alta). O teste U de Mann-Whitney (pMWU) foi utilizado para verificar diferenças estatísticas nas medianas de dois grupos, enquanto o teste de Kruskal-Wallis (pKW) foi utilizado para detectar diferença em três grupos. O teste Exato de Fisher (pFET) e o teste de Quiquadrado (pX^2) foram usados para avaliar a associação existente entre variáveis qualitativas. Em todas as análises o p-valor < 0,05 foi considerado significativo.

O modelo de regressão logística de Cox expresso pela razão de risco (*hazard ratio*), com seu respectivo intervalo de confiança (95%) foi utilizado para identificar os fatores associados à incidência de cura dos gatos com esporotricose submetidos aos dois esquemas terapêuticos, considerando o grupo ITZ como controle ativo e o de associação com KI como tratamento alternativo a ser avaliado pela primeira vez. Para a seleção dos preditores utilizamos uma modificação do algoritmo *forward*, onde avaliou-se primeiramente quais preditores foram significativos nos modelos univariados adotando nível de significância de 15%. Posteriormente, adicionamos os preditores significativos no primeiro passo do modelo multivariado e, em seguida retiramos um a um os preditores não significativos (do maior p-valor para o menor), assumindo nível de significância de 5% (teste de Wald), desde que o preditor não modificasse em mais de 10% o efeito dos demais preditores. O preditor do grupo de tratamento foi mantido no modelo final independente do p-valor, para controlar o efeito dos demais preditores. Para testar a hipótese de proporcionalidade dos riscos utilizamos o teste de Schoenfeld.

Utilizamos o teste de log-rank e o teste de Wald para avaliar fatores associados à incidência de reações adversas clínicas e laboratoriais, respectivamente. A análise de sobrevida de Kaplan Meier foi utilizada para descrever a distribuição dos tempos até a alta.

6 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Fundação Oswaldo Cruz (CEUA-Fiocruz); Licença LW-37/12, assim como o termo aditivo (**Apêndices B e C**, respectivamente).

7 RESULTADOS

7.1 CAPÍTULO I

Med Mycol. 2016 May 20. pii: myw027

Association of itraconazole and potassium iodide in the treatment of feline sporotrichosis: a prospective study

Érica G. Reis, Tânia M. P. Schubach, Sandro A. Pereira, Jéssica N. Silva, Beatriz W. Carvalho, Marcel S. B. Quintana and Isabella D. F. Gremião

Artigo aceito, publicação eletrônica prévia à publicação impressa (“Epub ahead of print”). Neste artigo avaliou-se a efetividade e segurança da associação entre ITZ e KI em gatos com esporotricose sem tratamento prévio, como uma nova opção terapêutica.



Medical Mycology, 2016, 0, 1–7
 doi: 10.1093/mmy/myw027
 Advance Access Publication Date: 0 2016
 Original Article



Original Article

Association of itraconazole and potassium iodide in the treatment of feline sporotrichosis: a prospective study

Érica G. Reis^{1,*}, Tânia M. P. Schubach¹, Sandro A. Pereira¹,
 Jéssica N. Silva^{1,2}, Beatriz W. Carvalho¹, Marcel S. B. Quintana³
 and Isabella D. F. Gremião¹

¹Laboratory of Clinical Research on Dermatozoonosis in Domestic Animals (Lapclin-Dermzoo), Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI)/Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brazil, ²Department of Mycology, Faculty of Veterinary Science, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil and ³Clinical Research Platform, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI)/Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brazil

*To whom correspondence should be addressed. Érica Guerino dos Reis (Reis, E.G.), Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos: Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI)/Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Av. Brasil 4365, Manguinhos, 21040-900 Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Tel/Fax: +55 21 3865-9536; E-mail: ericaguerino@gmail.com

Received 30 December 2015; Revised 19 February 2016; Accepted 14 March 2016

Abstract

Feline sporotrichosis is an endemic disease in Rio de Janeiro, Brazil, where zoonotic transmission of *Sporothrix* spp. has been reported since 1998. Itraconazole (ITZ) remains the first choice for treating this disease in cats. However, there have been reports of therapeutic failure and a long-term endeavor. Potassium iodide (KI), considered in the past as a drug with variable effectiveness in cats with sporotrichosis, arises as an important option in the treatment of cats from the endemic area of Rio de Janeiro. In order to evaluate the effectiveness of the association of ITZ and KI in naive cats with sporotrichosis, a prospective cohort study was conducted on 30 cats receiving ITZ 100 mg/day and KI 2.5 mg–20 mg/kg/day. Clinical and laboratory adverse effects were assessed once a month according to the standard care protocol. The cure rate was 96.15% within a median of 14 weeks of treatment. Adverse effects were observed in 50% of cats and were managed with a temporary drug suspension and/or a hepatoprotective therapy. The association of ITZ and KI emerges as an effective option for the treatment of feline sporotrichosis.

Key words: *Sporothrix*, cats, therapy, potassium iodide, itraconazole.

Introduction

Sporotrichosis is a mycosis caused by species of the *Sporothrix schenckii* complex.¹ The disease in cats has been

reported in several countries, but nowhere else has had an outbreak of animal sporotrichosis as the one seen in the state of Rio de Janeiro, Brazil,² where more than 4000 cases were described between 1998 and 2012.³ In this country,

the most prevalent etiological agent of feline sporotrichosis is *S. brasiliensis*.⁴

In the past years, zoonotic transmission of *Sporothrix* spp. from scratches, bites or contact with sick cats has been reported in Brazil, emphasizing the importance of this mycosis as a public health problem.⁵

The clinical manifestations of the disease in cats may range from an isolated skin lesion, which can progress to multiple lesions, and even to a fatal disseminated form.⁶ Nodules and ulcers are the most common types of cutaneous lesions. Extracutaneous signs such as lymphadenitis³, respiratory signs and mucosal involvement are frequent.⁷

The multifactorial difficulties of treating cats such as length of treatment, lack of conditions to keep the animal confined during treatment and noncompliance by the owners have been an obstacle for the control of this epidemic infection.³

Currently, itraconazole (ITZ) and potassium iodide (KI) are the most used drugs for the treatment of feline sporotrichosis and their effectiveness as a monotherapy has already been reported.^{3,7} In cases refractory to ITZ, authors had already shown the effectiveness and safety of the combined therapy of ITZ and KI capsules.³

Thus, the aim of this study was to evaluate the effectiveness and safety of the association of ITZ and KI in treatment-naïve cats as a new therapeutic option for feline sporotrichosis.

Material and methods

The study was an observational cohort conducted in cats assisted at the Laboratory of Clinical Research on Dermatозoonosis in Domestic Animals (Lapclin-Dermzoo), Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI)/Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Rio de Janeiro, Brazil, during the period of 2013–2014. The cats considered eligible for this study were those with sporotrichosis confirmed by isolation of *Sporothrix* spp. in culture, no previous systemic antifungal therapy, and weight > 3 kg.

The cats underwent a clinical examination and laboratory tests. Regarding the distribution of skin lesions, the cats were divided into three groups: L1 (cutaneous lesions in one location), L2 (cutaneous lesions in two noncontiguous locations), and L3 (cutaneous lesions in three or more nonadjacent locations).⁶

Exudate from the ulcerated lesion or secretion from the nasal cavities were collected by sterile swab and seeded on to Sabouraud dextrose agar and Mycobiotic agar (Difco), incubated at 25 °C and observed during 4 weeks for fungal growth. Suspected isolates were subcultivated on potato dextrose agar medium (Difco) at 25 °C for macroscopic and microscopic morphological studies, and dimorphism

was demonstrated by conversion to the yeast-like form on brain heart infusion agar medium (Difco) at 37 °C. Blood samples were collected for biochemistry analysis (urea, creatinine, alanine transaminase [ALT], aspartate aminotransferase [AST]) before and during the treatment. All cats were tested serologically for the feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukemia virus (FeLV) with an immunoenzymatic test (Snap Combo FeLV/FIV; Idexx Laboratories).

The procedures of the study were approved by the Animal Ethics Committee (CEUA-Fiocruz); number LW 37/12, and informed consent was obtained from all owners.

Treatment

A regimen of oral ITZ 100 mg and KI 2.5 mg/kg in two different capsules was administered once a day with food by the owners. At the first appointment, the dose of KI was established at 2.5 mg/kg. The cats were observed monthly for clinical examination and laboratory tests.

At the follow-up visits in cases of persistence of the initial skin/mucosal lesion, persistence of respiratory signs or worsening of the lesion(s)—which was characterized by an enlargement and/or appearance of new lesion—the dose of KI was increased with a daily increment of 2.5 mg/kg at every 30-day period until a clinical response was achieved or until the dose reached 20 mg/kg maximum.

The criteria for clinical cure were complete healing of the skin/mucosal lesions and remission of clinical signs initially presented. After clinical cure, the therapy was maintained for an additional period of four weeks, which corresponded to the discharge assessment. All procedures and drugs were supplied free-of-charge for the cats' owners.

Management of adverse effects

Cats presenting hyporexia or anorexia combined with loss of >10% of body weight, or the association of clinical adverse effects (CAE) and laboratory alterations had a temporary suspension of the drugs (minimum seven days [ITZ] and ten days [KI]). The reintroduction of each drug happened in alternated and different times in the attempt to discover which drug was causing the unwanted effect. Furthermore, cats with a mild elevation in transaminases levels⁸ received a hepatoprotective therapy with oral silymarin 30 mg/kg, once a day.⁹

Statistical analysis

Data were stored at Epidata (v. 3.1) and analyzed with R-software for Windows (v. 3.2.2). For descriptive analysis, we calculated the frequencies and proportion of the categorical variables and measures of central tendency for quantitative variables (median and interquartile range). The

Mann–Whitney U-test was used to verify the statistical differences in medians of two groups. To detect differences in three groups, the Kruskal–Wallis test was performed. The Fisher exact test of independence was used to compare proportions between nominal variables. In all specified analyses, a P -value $<.05$ was considered significant.

Results

Clinical and epidemiological characteristics

Thirty owned-cats of both sexes from the Rio de Janeiro metropolitan region were included in the study. Of these, 24 were males (80%), 27 had no defined breed (90%), 16 were sexually intact (53.33%), and 14 belonged to L3 group (46.67%). The median age and time of illness before treatment was 21 months (8–72 months) and 8 weeks (1–24 weeks), respectively. All cats presented skin lesions, mostly on the head (53.33%), especially on the nasal region (30%). Ulcer was the prevalent skin lesion (76.66%) ranging in number from one to 39 (median = 5). Eight cats also had nasal mucosa involvement (17%) and conjunctivitis (10%). Respiratory signs were observed in 20% of the cats, and rhinorrhea was the most common one followed by sneezing and dyspnea. Two cats tested positive for FeLV, but no association with negative outcome was detected ($P = 1.00$). Table 1 shows the clinical and epidemiological characteristics of interesting and therapeutic outcome.

Evaluation of treatment

Twenty-five cats achieved clinical cure (96.15%) and were discharged from the therapeutic protocol (Figure 1). One cat died (3.85%) during treatment and four cats were lost during follow-up.

The median dose of ITZ during the study was 26.3 mg/kg (19.6–33.3 mg/kg), while KI was 3.1 mg/kg (2.5–5.4 mg/kg). Five cats needed an increase of KI dose due to a poor improvement of skin lesions ($n = 1$), nasal mucosa lesions ($n = 2$) (Figure 2) and both ($n = 2$).

The median time of treatment until discharge was 14 weeks (8–30 weeks). Nevertheless, cats with mucosal involvement presented a longer median time (23 weeks) when compared to cats with skin lesion only ($P < .001$). The distribution of period of time until discharge for L1 (15 weeks), L2 (13 weeks), and L3 (15 weeks) was not statistically significant ($P = .6$).

Adverse effects

Adverse effects occurred in 50% of the cats under the study protocol. Of which, 20% showed only CAE, 16.67%

Table 1. Descriptive for clinical and epidemiological characteristics of 30 cats with sporotrichosis treated with ITZ+KI, length of treatment and outcome.

Variables	n (%)
Sex	
Male	24 (80%)
Female	6 (20%)
Overall condition	
Good	25 (83.33%)
Fair	3 (10%)
Poor	2 (6.63%)
Access to outdoors	23 (76.67%)
Age, months*	21 (15–24)
Weight, kg*	3.8 (3.3–4.3)
Clinical form	
Cutaneous	22 (73%)
Cutaneous/Mucosal	8 (27%)
Distribution of skin lesions	
L1	7 (23.33%)
L2	9 (30%)
L3	14 (46.67%)
Lymphadenitis	25 (83.33%)
Lymphangitis	3 (10%)
Cats with KI increases	5 (16.67%)
Clinical cure**	25 (96.15%)
Time until remission of clinical signs, weeks*	9 (8–17)
Time until discharge, weeks*	14 (11.5–21.5)

*Continuous variables expressed as median and interquartile range (IQR 25–75%).

**Clinical cure calculated according to 26 cats.

presented just a mild elevation in transaminase levels and 13.33% presented both CAE and mild elevation in transaminases levels. The most frequent CAE were hyporexia and weight loss. Six cats had the therapy temporarily suspended due to clinical signs of hepatotoxicity or these signs combined with a mild elevation in transaminases levels. The type and frequency of the effects that drove to an interruption are shown in Table 2. All adverse effects that required suspension of the drugs were reversible within 7 to 20 days (median = 7 days) of drug suspension or hepatoprotective therapy. The abnormalities in biochemistry panel were transient, as shown by later measurements, which returned to predrug levels.

Discussion

This is the first report to evaluate the association of ITZ and KI in cats with sporotrichosis regarding clinical signs, clinical cure, and adverse effects. Sporotrichosis persists as a neglected disease in Rio de Janeiro, Brazil. The treatment of cats is difficult and the monotherapy with ITZ has variable cure rate. The association of ITZ and KI has been

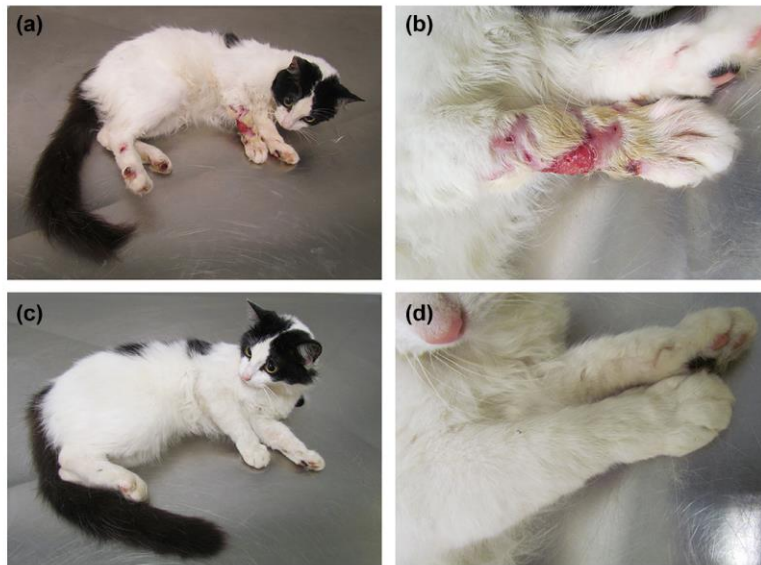


Figure 1. (a) Cat with sporotrichosis presenting multiple ulcers before antifungal treatment. (b) Close up picture of the extensive skin lesion on the right forelimb. (c, d) The skin lesions have resolved after ITZ and KI treatment. This Figure is reproduced in color in the online version of *Medical Mycology*.



Figure 2. (a) Cat with sporotrichosis presenting an ulcer on the nose before antifungal treatment. (b) Close up picture of the lesions on the nose and nasal mucosa. (c, d) The skin and mucosal lesions have resolved after ITZ and KI treatment. This Figure is reproduced in color in the online version of *Medical Mycology*.

successfully used in fungal infections with difficult resolution. This inspired us to conduct a study in cats.

The prevalence of male cats, young adults, sexually intact from the metropolitan area of Rio de Janeiro corrob-

orates with the findings of previous studies.^{2,6,7,10,11} The unneutered male cat with unrestricted access to outdoors is the most affected and involved in the agent dispersal in the environment.^{12,13} The clinical aspect, location, and

Table 2. Distribution of adverse effects and drug interruption observed in cats with sporotrichosis under ITZ+KI treatment.

Cat	Type of adverse effect	Temporary drug interruption (length)
1	↑ALT	N/A
2	↑ALT	N/A
3	↑ALT	N/A
4	↑ALT + ↑AST; Hyporexia + weight loss	Twice (7 days each)
5	↑ALT + ↑AST; Anorexia + weight loss	Once (20 days)
6	↑ALT + ↑AST; Hyporexia + weight loss	Once (7 days)
7	↑ALT; Hyporexia + weight loss	Twice (10 days; 7 days)
8	↑ALT + ↑AST	N/A
9	↑ALT	N/A
10	Hyporexia + weight loss	Once (7 days)
11	Anorexia + weight loss	Once (7 days)
12	Vomiting + weight loss	N/A
13	Hyporexia + vomiting	N/A
14	Weight loss	N/A
15	Hyporexia	N/A

Abbreviations: ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase; N/A: Not applicable; †: High.

distribution of cutaneous lesions, and time of illness before treatment were similar to other studies of the same area.^{3,6,14}

Lymphadenitis (83.33%) was the most frequent extracutaneous sign followed by mucosal involvement (27%) and respiratory signs (20%). In feline sporotrichosis, mucosal involvement is quite common, especially the nasal mucosa, combined with nasal discharge and sneezing^{6,7,10} as noted in this series. The conjunctival mucosa was also affected as reported previously.¹⁵

The cats that tested positive for FeLV achieved complete resolution of clinical signs following treatment. These results corroborate with other authors^{6,7,10} which could not find an association between feline retrovirus coinfection and a negative outcome in feline sporotrichosis treatment.

Despite the increasing number of cases of sporotrichosis and the high zoonotic potential of cats, few studies have presented alternatives for the treatment of feline sporotrichosis so far. ITZ remains the drug of choice even with failure reports and longtime treatment.^{10,14} Besides ITZ, ketoconazole,¹⁰ amphotericin B,¹⁴ and KI⁷ have been described for treating this disease in cats. Terbinafine and posaconazole have shown good activity *in vitro* against *S. brasiliensis* isolates¹⁶; however, there are no studies that evaluated the effectiveness and safety of these drugs in feline sporotrichosis. KI capsules as a monotherapy has been successfully used both in treating naïve cats⁷ and in refractory to ITZ.¹⁷ The association of ITZ and KI was described for the treatment of sporotrichosis¹⁸ and other fungal infections in humans^{19,20} as well as for sporotrichosis in cats' refractory to ITZ.²¹ The combination of ITZ and KI is referred as providing better outcome when compared to each drug alone.^{19,20}

Although most of the studies in cats with sporotrichosis have been reported by our research group, the comparison between these results and others previously reported must be carefully considered due to differences in study design.

The cure rate described in this study was higher than in previous reports from the same endemic region using ITZ and KI as monotherapy.^{7,10} Unusually, in a retrospective study, authors reported clinical cure in 17 cats (100%) treated with ITZ 10 mg/kg,²² although it has been mentioned capsules of ITZ 100 mg. Since it was impossible to confirm the dose of ITZ used and the clinical monitoring that was performed, these results have not been considered for comparison with our findings. Regarding the effectiveness of ITZ and KI in cats, the results of this study showed better cure rates compared to those cats' refractory to ITZ 100 mg/day²¹ (96.15% vs 63.2%, respectively). These findings may confirm that treatment of cats' refractory to ITZ is more difficult and requires greater adherence of the cats' owners to the proposed therapeutic protocol.

A higher dose of ITZ has been used in this series since the one usually reported in literature (5–10 mg/kg/24 h) has previously shown to be inefficient in achieving clinical cure in cats from Rio de Janeiro.¹⁰ The dose of KI used was lower than reported by Reis et al.⁷ and could be explained by the combined therapy of ITZ and KI enhancing the antifungal activity and a small number of cats presenting mucosal involvement and respiratory signs, which are known to be a hindrance to clinical cure.

The time until discharge in this study was markedly lower (median = 14 weeks) than in previous reports with ITZ monotherapy (median = 26).¹⁰ Nonetheless, it is consistent with the period heretofore described with KI monotherapy.⁷ Although length of treatment in this series

was 14 weeks, the median time until complete remission of clinical signs was 9 weeks, which corresponds to the first evidence of clinical cure.

The occurrence of adverse effects during treatment with azoles and KI monotherapy is frequent and it has been completely established. Anorexia and increased ALT are considered to be dose dependent of ITZ²³ and also had been reported in cats with sporotrichosis under KI therapy.⁷ The adverse effects are managed with a temporary drug suspension and an accurate clinical follow-up. The CAE of ITZ and KI were similar to those observed in ITZ alone¹⁰ (8.3–27.7 mg/kg) and lower than those reported on KI monotherapy (2.5–20 mg/kg).⁷ The latter fact may be explained by a lower KI dosage used here.

The mechanism of action of iodides remains poorly understood and the antifungal activity *in vitro* of this agent has never been confirmed. The immune-modulating role may be the key for the satisfactory response to treatment,^{24,25} and thus, the use of drugs that may boost the immune system such as KI, should be explored for association with ITZ for treating feline sporotrichosis.

Therefore, ITZ combined with KI emerge as an effective treatment with a faster onset of action and a moderate percentage of adverse effects. To be considered as a first-line treatment of feline sporotrichosis, a clinical trial should be carried out comparing ITZ and the association of ITZ and KI in treatment naive cats. Nevertheless, the high costs of controlled clinical trials combined to the lower adherence of the owners are some of the obstacles for novel therapeutic protocols in cats with sporotrichosis.

Acknowledgments

The authors are grateful to Bruna Fernandes S Salgueirinho, Ana Caroline de S Machado, Jéssica S Boechat, Luisa Helena Monteiro de Miranda (Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz); Noemi Lorenzi (Sefarm/INI/Fiocruz), and all staff from Lab-Micol/INI/Fiocruz for assistance. We thank Daniel Sanches for the careful English review of the article.

This work was supported by grants from the Brazilian funding agencies: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico [Gremião IDF, Universal: 478262/2013-2; Schubach TMP: 305669/2012-5], Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro [Pereira SA, Jovem Cientista do Nosso Estado: E-23/102.255/2013; Schubach TMP, Cientista do Nosso Estado: E-26/102251/2009]; and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

TMPS has a fellowship from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Declaration of interest

The authors do not have any potential conflicts of interest to declare.

References

- Oliveira MM, Almeida-Paes R, Gutierrez-Galhardo MC et al. Molecular identification of the *Sporothrix schenckii* complex. *Rev Iberoam Micol* 2014; 31: 2–6.
- Pereira SA, Gremião IDF, Kitada AAB et al. The epidemiological scenario of feline sporotrichosis in Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2014; 47: 392–393.
- Gremião IDF, Menezes RC, Schubach TMP et al. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. *Med Mycol* 2015; 53: 15–21.
- Rodrigues AM, Teixeira MM, Hoog GS et al. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7: e2281.
- Barros MB, de Almeida Paes R, Schubach AO. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. *Clin Microbiol Rev* 2011; 24: 633–654.
- Schubach TMP, Schubach A, Okamoto T et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). *J Am Vet Med Assoc* 2004; 224: 1623–1629.
- Reis EG, Gremião IDF, Kitada AAB et al. Potassium iodide capsule in the treatment of feline sporotrichosis. *J Fel Med Surg* 2012; 14: 399–404.
- Center SA. Interpretation of liver enzymes. *Vet Clin Small Animals* 2007; 37: 297–333.
- Avizeh R, Najafzadeh H, Razijalali M et al. Evaluation of prophylactic and therapeutic effects of silymarin and N-acetylcysteine in acetaminophen-induced hepatotoxicity in cats. *J Vet Pharmacol Ther* 2010; 33: 95–99.
- Pereira SA, Passos SR, Silva JN et al. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. *Vet Rec* 2010; 166: 290–294.
- Miranda LH, Conceição-Silva F, Quintella LP et al. Feline sporotrichosis: histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2013; 36: 425–432.
- Dunstan RW, Langham RF, Reimann KA et al. Feline sporotrichosis: a report of five cases with transmission to humans. *J Am Acad Dermatol* 1986; 15: 37–45.
- Montenegro H, Rodrigues AM, Dias MAG et al. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. *BMC Vet Res* 2014; 10: 269.
- Gremião IDF, Schubach TMP, Pereira SA et al. Treatment of refractory feline sporotrichosis with a combination of intraleisional amphotericin B and oral itraconazole. *Aust Vet J* 2011; 89: 346–351.
- Silva DT, Pereira SA, Gremião IDF et al. Feline conjunctival sporotrichosis. *Acta Sci Vet* 2008; 36: 181–184.
- Borba-Santos LP, Rodrigues AM, Gagini TB et al. Susceptibility of *Sporothrix brasiliensis* isolates to amphotericin B, azoles and terbinafine. *Med Mycol* 2015; 53: 178–188.
- Duharte AB, Pereira SA, Freitas DFS et al. Therapeutic and Prophylactic Tools for Sporotrichosis: Current Strategies and Future Tendencies. In: Carlos IZ, *Sporotrichosis: New Developments and Future Prospects*, 1st edn. Switzerland: Springer, 2015: 157–161.
- Song Y, Li SS, Zhong SX et al. Report of 457 sporotrichosis cases from Jilin province, northeast China, a serious endemic region. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013; 27: 313–318.

19. Gupta M, Narang T, Kaur RJ et al. A prospective case series evaluating efficacy and safety of combination of itraconazole and potassium iodide in rhinofacial conidiobolomycosis. *Int J Dermatol* 2015; 55: 208–214.
20. Mendiratta V, Karmakar S, Jain A et al. Severe cutaneous zygomycosis due to *Basidiobolus ranarum* in a young infant. *Pediatr Dermatol* 2012; 29: 121–123.
21. Rocha RFDB. Treatment of refractory feline sporotrichosis with the association of potassium iodide and oral itraconazol. *Master dissertation, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases – Fiocruz*, 2014 [Tratamento da esporotricose felina refratária com associação de iodeto de potássio e itraconazol oral].
22. Rossi CN, Odagui J, Larsson CE. Retrospective assessment of the treatment of sporotrichosis in cats and dogs using itraconazole. *Acta Sci Vet* 2013; 41: 1112.
23. Greene CE, Calpin J. Antimicrobial Drug Formulary. In: *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 4th edn. St Louis: Elsevier Saunders, 2012: 1268–1270.
24. Torres-Mendoza BM, Vazquez-Valls E, Gonzalez-Mendoza A. Effect of potassium iodide on the immune response in the sporotrichosis. *Rev Iberoam Micol* 1997; 14: 98–100.
25. Sterling JB, Heymann WR. Potassium iodide in dermatology: a 19th century drug for the 21st century—uses, pharmacology, adverse effects, and contraindications. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43: 691–697.

7.2 CAPITULO II

7.2.1 Ensaio clínico

Cento e oitenta e um gatos com suspeita de esporotricose, atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz, entre 2013 e 2016 foram incluídos no estudo. Destes, 166 foram randomizados no protocolo terapêutico conforme o fluxograma da **figura 1**. Os animais não incluídos receberam atendimento clínico e terapêutico sem ônus aos responsáveis.

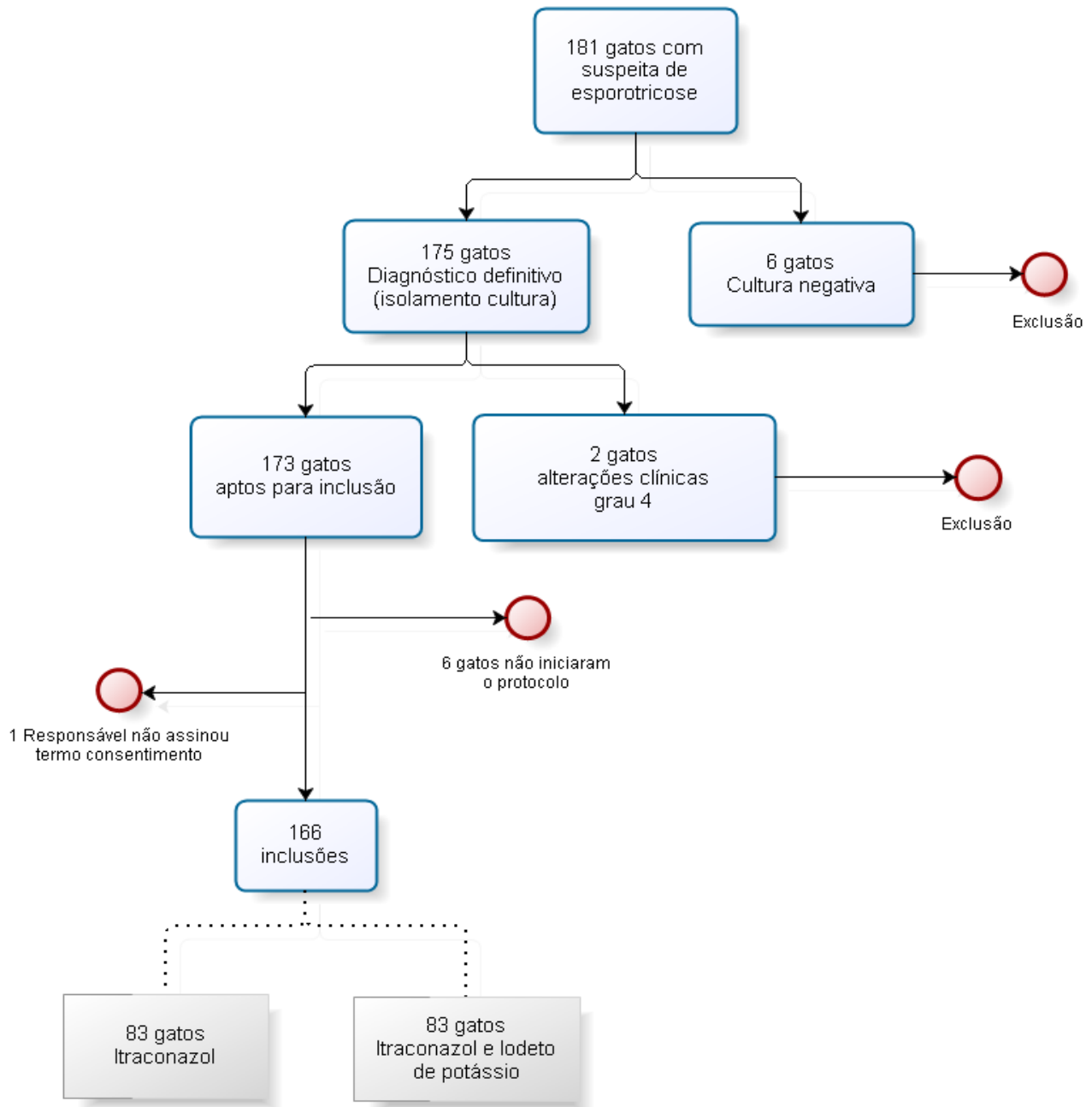


Figura 1: Fluxograma de atendimento dos gatos com suspeita de esporotricose pré-incluídos no ensaio clínico e atendidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz, entre janeiro de 2013 e maio de 2016.

*Gatos que não iniciaram o protocolo terapêutico foram excluídos do estudo por não representar dados estatísticos significativos à análise de sobrevivência.

7.2.2 Características demográficas, clínicas e laboratoriais

Os gatos incluídos no estudo eram provenientes da região metropolitana do Rio de Janeiro, principalmente dos municípios do Rio de Janeiro (n=93; 56,1%), Duque de Caxias (n=22; 13,25%) e Nova Iguaçu (n=12; 7,2%) [Gráfico 1]. A maioria dos animais apresentava bom estado geral (n=147; 88,5%), não possuía raça definida (n=152; 91,5%) e tinha acesso à rua (n=130; 78,3%). As medianas de idade e peso dos animais foram de 24 meses (6 - 96 meses) e 4 kg (3 - 6,4 kg), respectivamente.

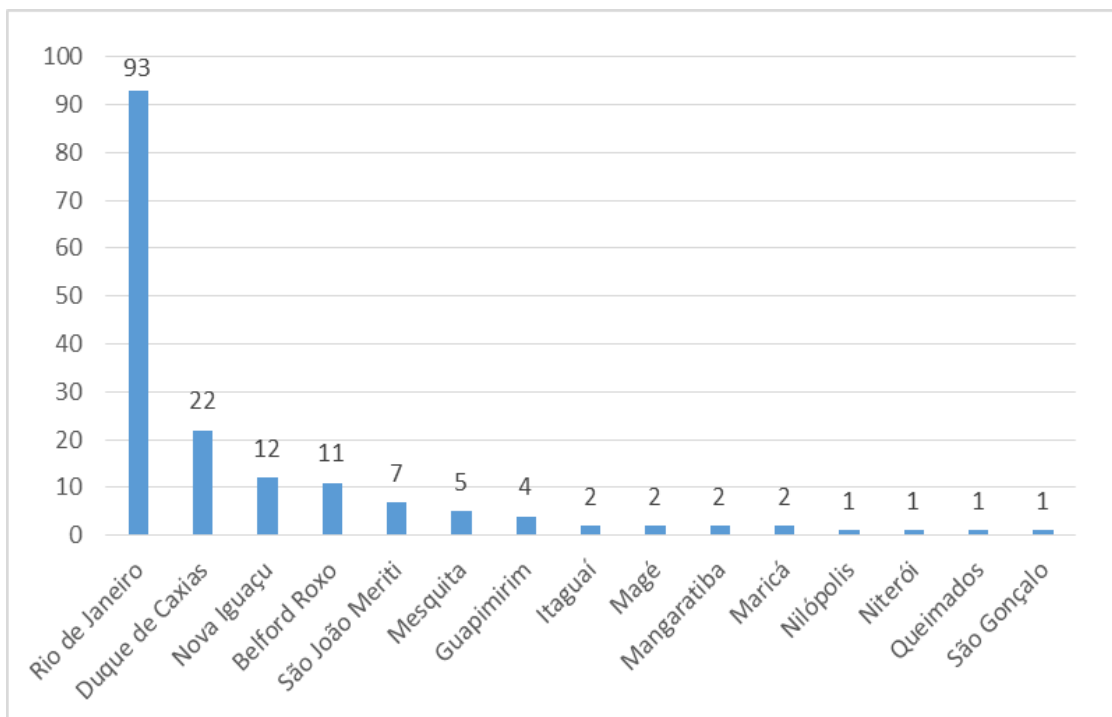


Gráfico 1. Procedência dos 166 casos de esporotricose felina incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Todos os gatos incluídos no estudo apresentaram lesões cutâneas (n=166; 100%) na consulta inicial, sendo a úlcera o tipo de lesão mais frequente (n=160; 96,4%) [Gráfico 2], assim como lesões localizadas (n=98; 59,1%). Entretanto, a presença de lesões múltiplas (n=68; 40,9%) foi associada ao desfecho desfavorável ($pX^2=0,01$). Com relação à distribuição das lesões cutâneas, houve predomínio de gatos com três ou mais lesões em sítios anatômicos não contíguos: L3 (n=69; 41,8%)

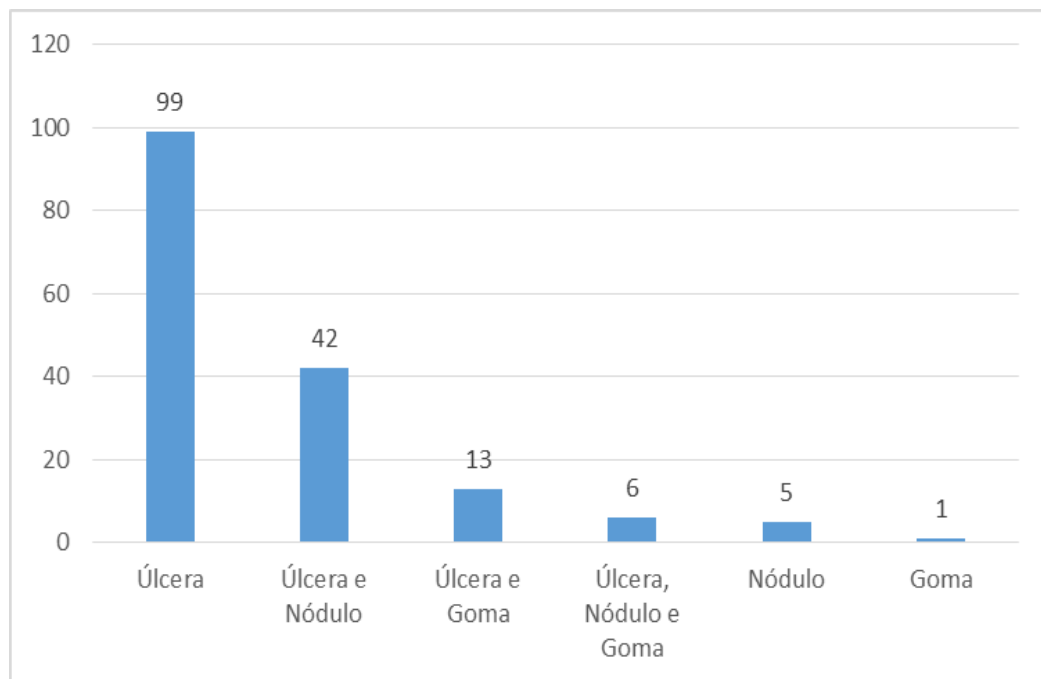


Gráfico 2. Lesões cutâneas observadas ao primeiro atendimento nos 166 casos de esporotricose felina incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

A cabeça, isoladamente ou em associação com outras regiões, foi o sítio mais acometido (n=86; 51,8%), seguido pelo membro anterior esquerdo (n=54; 32,5%) e tórax (n=32; 19,3%). A frequência das lesões cutâneas distribuídas por sítios anatômicos agrupados é demonstrada no **gráfico 3**.

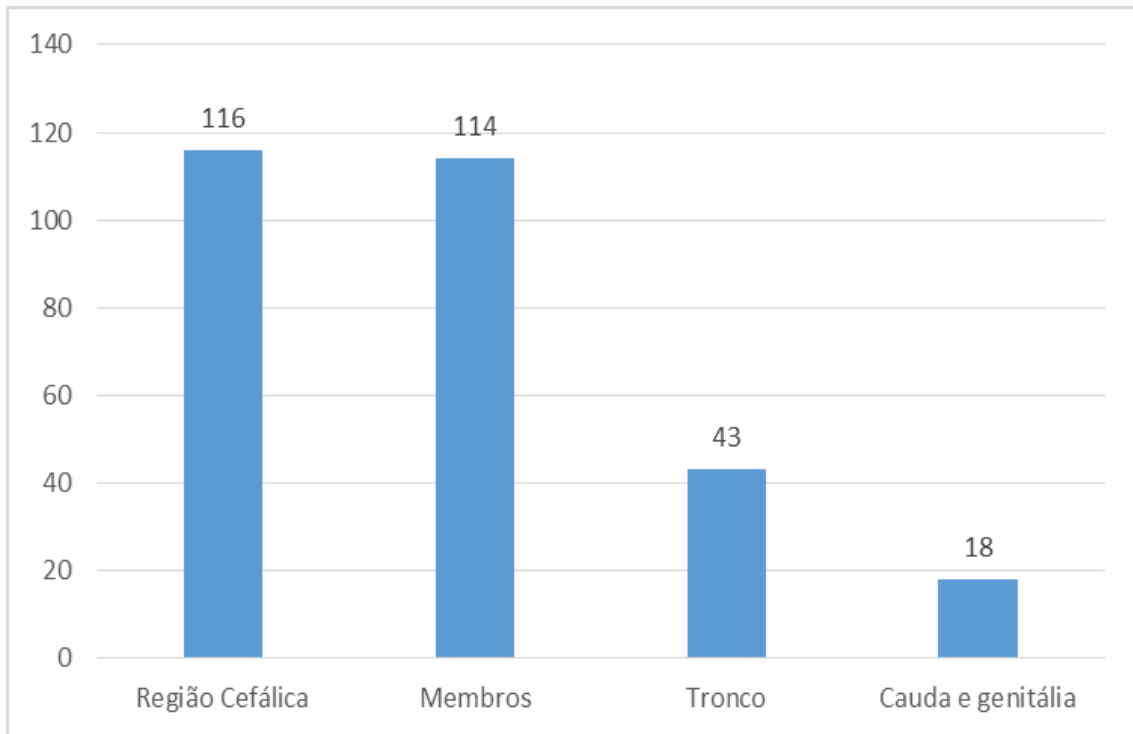


Gráfico 3. Frequência das lesões cutâneas por sítio anatômico agrupado nos 166 casos de esporotricose felina incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Cinquenta e nove gatos apresentaram lesão em mucosas (**Gráfico 4**), com maior percentual de acometimento da mucosa nasal (n=49; 29,5%). Em adição ao comprometimento de mucosas, sinais respiratórios foram observados em 53 (31,9%) gatos, sendo a tríade "Espirro+Rinorreia+Dispneia", a mais prevalente (n=24; 45,2%) [**Gráfico 5**].

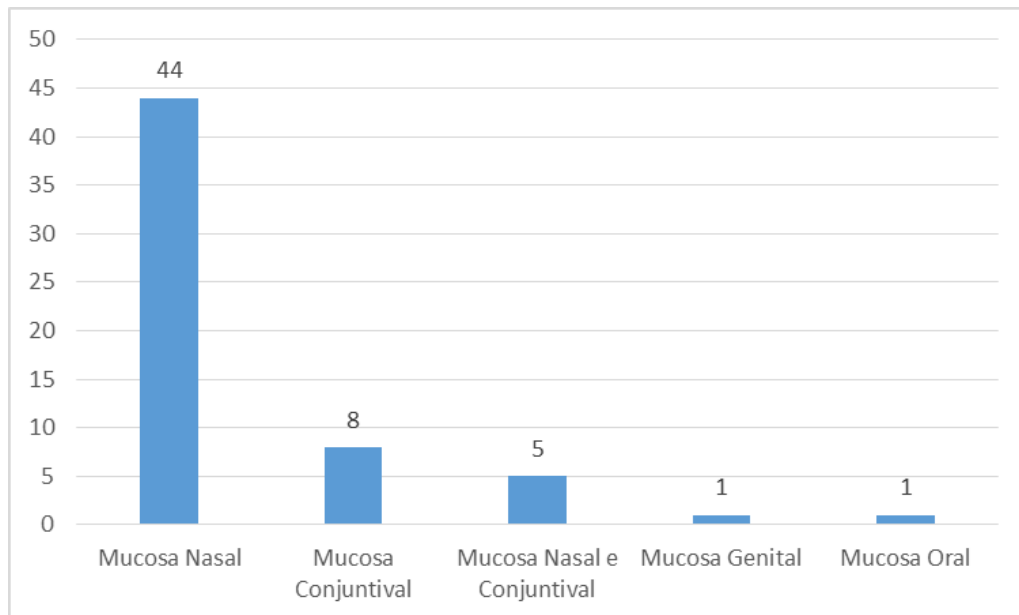


Gráfico 4. Frequência de lesão mucosa observada ao primeiro atendimento nos gatos com esporotricose incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

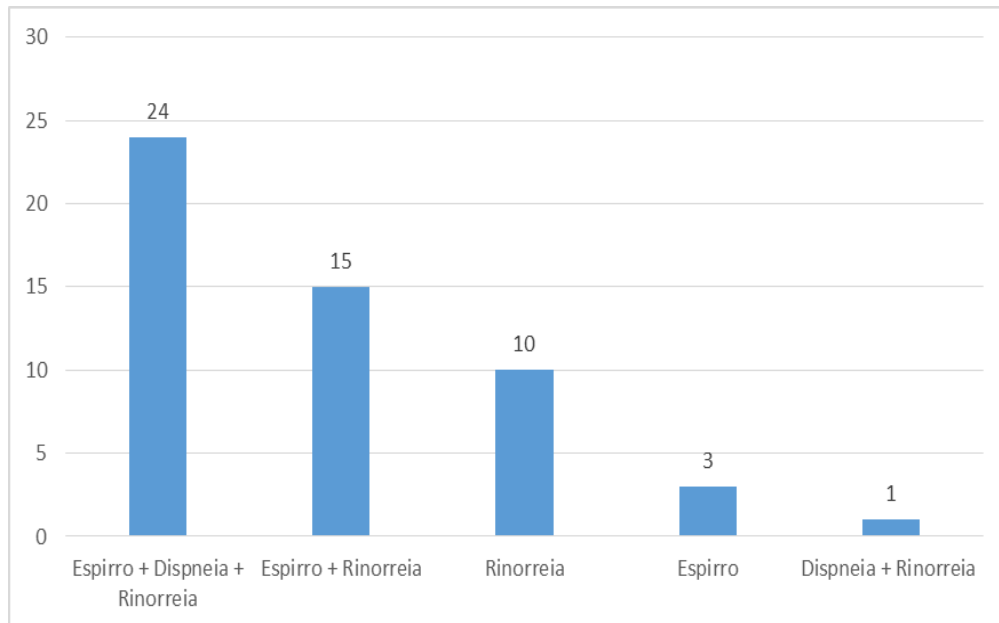


Gráfico 5. Frequência de sinais respiratórios observados ao primeiro atendimento nos gatos com esporotricose incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

As características clínicas dos gatos de acordo com o grupo de tratamento estão apresentadas na **Tabela 1**. Os grupos apresentaram equivalência quanto à idade (G1 e G2: 24 meses [mediana]), peso (G1 e G2: 4 kg [mediana]) e tempo de infecção até o início do tratamento (G1 e G2: 8 semanas [mediana]).

Tabela 1- Características clínico-epidemiológicas dos gatos com esporotricose (n=166) tratados com ITZ e ITZ+KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Variáveis	ITZ n (%)	ITZ+KI n (%)
Número de gatos	83	83
Sexo		
Macho	58 (69,9%)	64 (77,1%)
Fêmea	25 (30,1%)	19 (22,9%)
Forma clínica		
Cutânea	51 (61,4%)	56 (67,5%)
Cutânea/Mucosa	32 (38,6%)	27 (32,5%)
Distribuição das lesões cutâneas		
L1	27 (32,5%)	26 (31,3%)
L2	22 (26,5%)	22 (26,5%)
L3	34 (41%)	35 (42,2%)
Linfadenopatia	69 (83,1%)	67 (80,7%)
Linfangite	16 (19,3%)	13 (15,7%)
Sinais respiratórios	30 (36,1%)	23 (27,7%)
Acesso à rua	68 (81,9%)	62 (74,1%)
Castrados	36 (43,4%)	45 (54,2%)

L1 Lesões cutâneas em 1 sítio anatômico

L2 Lesões cutâneas em 2 sítios anatômicos não contíguos

L3 Lesões cutâneas em 3 ou mais sítios anatômicos não contíguos

Nos exames laboratoriais prévios à intervenção farmacológica, foram observadas alterações nos perfis hematológico e bioquímico, no entanto, essas alterações não impediram a inclusão desses animais no estudo (**Tabela 2**).

Tabela 2 – Alterações hematológicas e bioquímicas prévias ao tratamento observadas nos gatos com esporotricose incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Alterações hematológicas e bioquímicas	(n;%)	Mediana;variação
↓ Hematócrito (%)	n= 31; 13,9%	22,1; 16,7-23,8
Leucocitose (quant./uL)	n=20; 12%	22.000; 19.800-41.620
Leucopenia (quant./uL)	n=3; 1,8%	4.400; 4.100-4.500
Creatinina (mg/dL)	n=2; 1,2%	2,06; 2,01-2,11
ALT (U/L)	n=19; 11,4%	110; 86-502

↓ : redução ; valor de referência: Creatinina (0,8-1,8), ALT: 6-83 [Anexo C], HT (24-45%), Leucograma global (5.000-19.500) [Anexo B].

7.2.3 Avaliação do Tratamento

Dos 166 gatos incluídos no ensaio clínico, 115 receberam alta (69,3%) [**Figura 2,3**]. Os gatos pertencentes ao grupo L3 apresentaram menor percentual de cura clínica (n=41/69; 59,4%) quando comparados àqueles dos grupos L1 (n=39/53; 73,6%) e L2 (n= 35/44; 79,5%). O tempo de tratamento dos animais variou entre 8 e 38 semanas, com mediana de 15 semanas. No entanto, gatos com lesão em mucosas apresentaram maior tempo mediano de tratamento (17 semanas) quando comparados àqueles com apenas lesões cutâneas (14 semanas) [pMWU=0,013]. A mediana do tempo de tratamento entre os grupos L1 (14 semanas), L2 (13,5 semanas) e L3 (15 semanas) não foi estatisticamente significativa (pKW=0,27).



Figura 2. (a) Gato com esporotricose atendido no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz apresentando úlcera no membro posterior esquerdo antes do tratamento; (b) foto aproximada da lesão no membro posterior esquerdo; (c,d) cicatrização da lesão após 4 semanas de tratamento com ITZ.



Figura 3. (a,b) Gato com esporotricose atendido no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz apresentando nódulo no nariz e envolvimento da mucosa nasal antes do tratamento; (c) cicatrização da lesão após 4 semanas de tratamento com ITZ+KI; (d) ausência de lesões cutâneas e mucosas 4 semanas após a cura; interrupção definitiva dos fármacos - alta.

A frequência dos desfechos e a mediana do tempo de tratamento segundo o grupo terapêutico estão descritas na **Figura 4** e na **Tabela 3**, respectivamente.

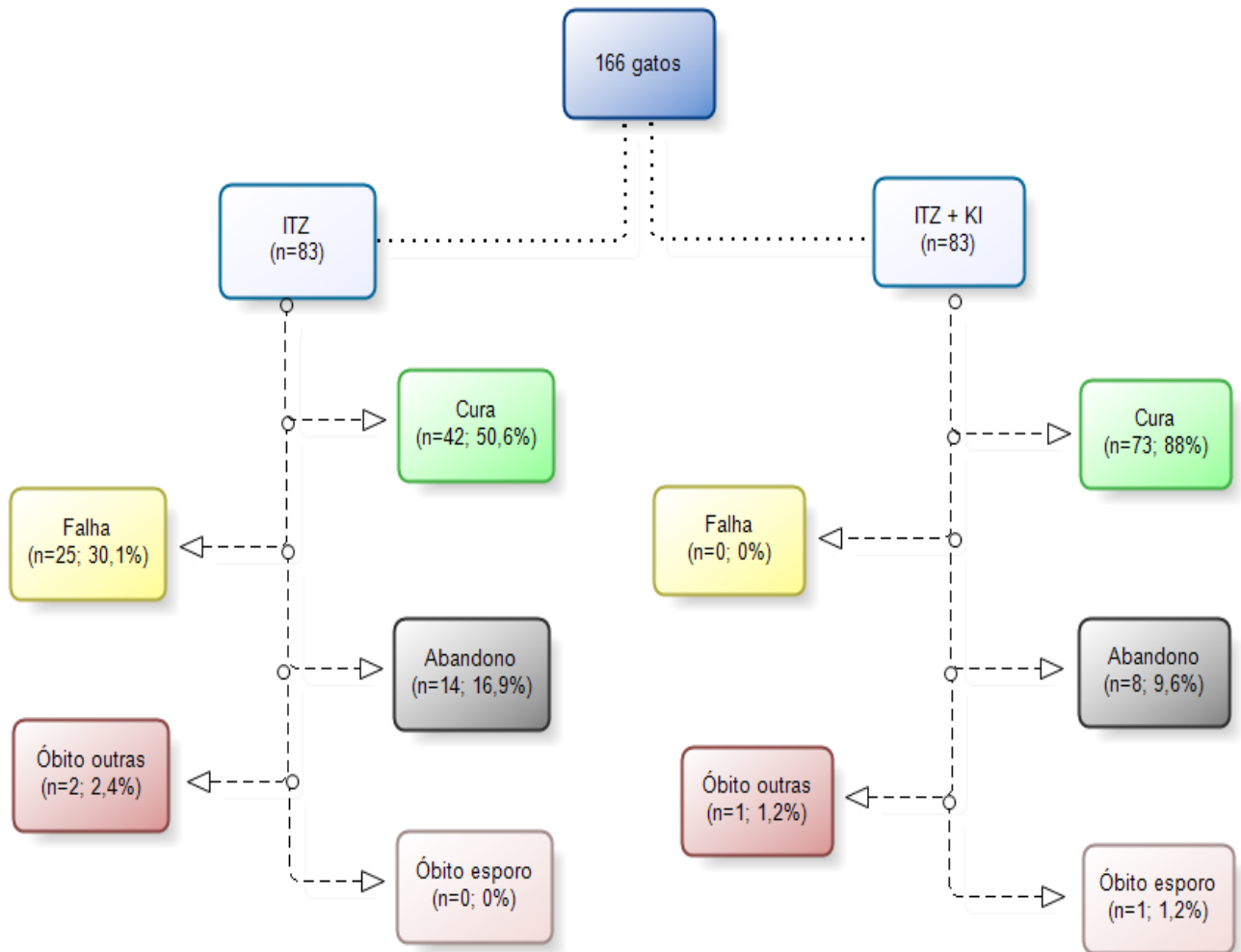


Figura 4. Distribuição dos desfechos dos 166 gatos com esporotricose incluídos no estudo e tratados com ITZ e ITZ+KI entre 2013 e 2016 (Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz).

Tabela 3: Frequência de alta e mediana do tempo de tratamento dos gatos com esporotricose tratados com ITZ e ITZ+KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Variáveis	ITZ	ITZ+KI	p-valor
Alta ^a [%]	42 (50,6%)	73 (88%)	-
Tempo até a remissão dos sinais clínicos ^b , semanas [Mediana (IQR 25-75%)]	10 (5-14)	9 (6-17)	pMWU=0,517
Tempo até a alta ^b , semanas [Mediana (IQR 25-75%)]	15,1 (9,5-19)	14,7 (12-21,5)	pMWU=0,2158

^a Variável contínua expressa como numeral (n) e porcentagem(%)

^b Variável contínua expressa como mediana e intervalo interquartilico (IQR 25-75%)

IQR: Intervalo interquartilico

pMWU: p-valor atribuído ao Teste de Mann-Whitney

Ainda que a mediana do tempo de tratamento tenha sido similar entre os grupos do estudo, a função de sobrevivência apresentada pela curva de Kaplan Meier nos permite dizer que os gatos do grupo ITZ+KI apresentaram melhor distribuição do tempo até a alta, ou seja, sua ocorrência foi mais frequente e homogênea em relação aos gatos do grupo ITZ (**Figura 5**).

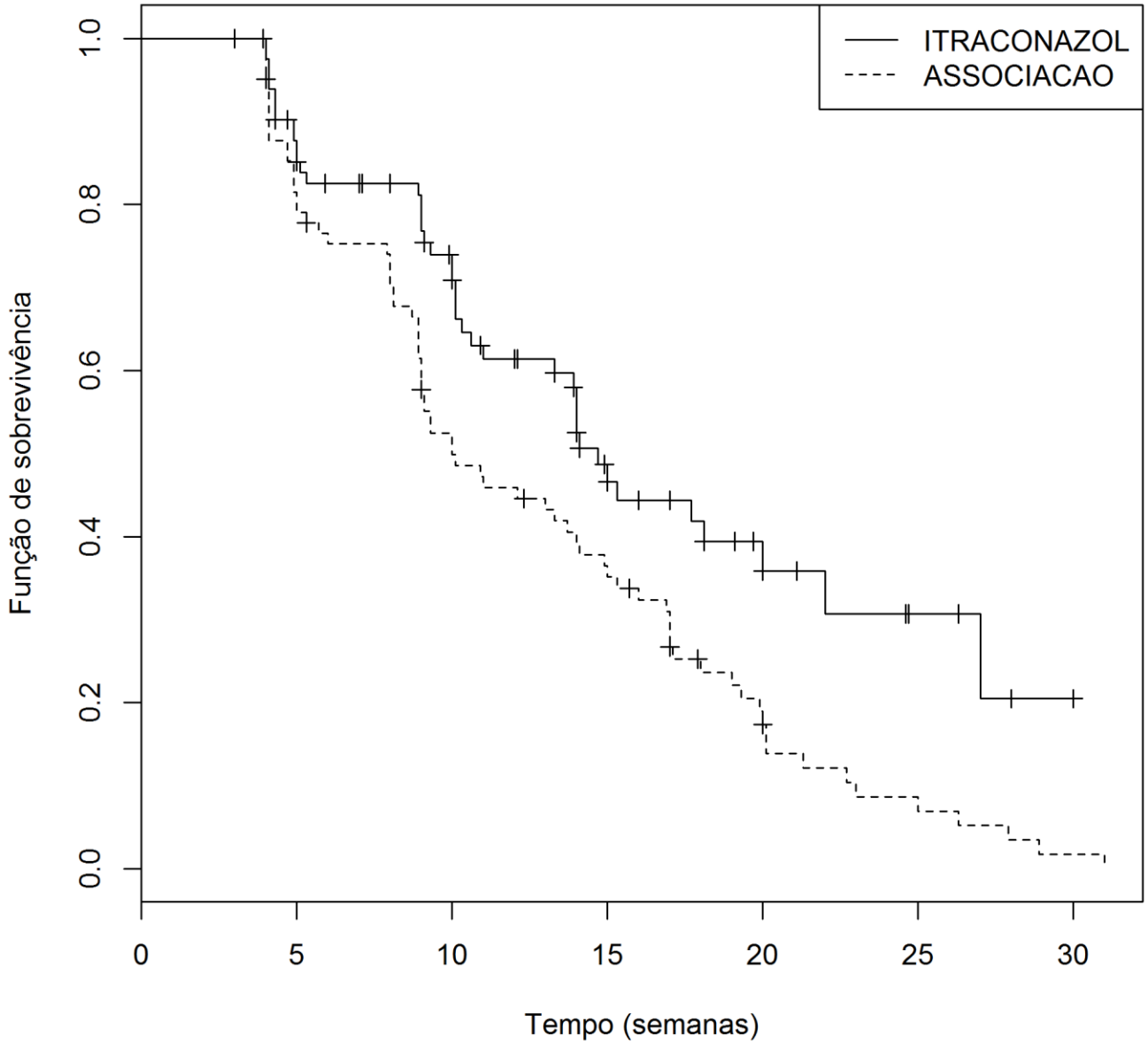


Figura 5. Curva de Kaplan Meier: Distribuição dos tempos até a alta nos gatos com esporotricose submetidos ao tratamento com ITZ e ITZ+KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Vinte e cinco gatos do grupo ITZ apresentaram falha terapêutica [Figura 6], que ocorreu entre a 7ª e a 30ª semana de tratamento (md=14 semanas), devido a estagnação, piora do quadro clínico ou reações adversas clínicas e elevação das transaminases. A variável “Sinais respiratórios” foi fortemente associada a falha terapêutica ($pX^2=0,01$). No **quadro 1**, observamos as características clínicas de importância nessa população.

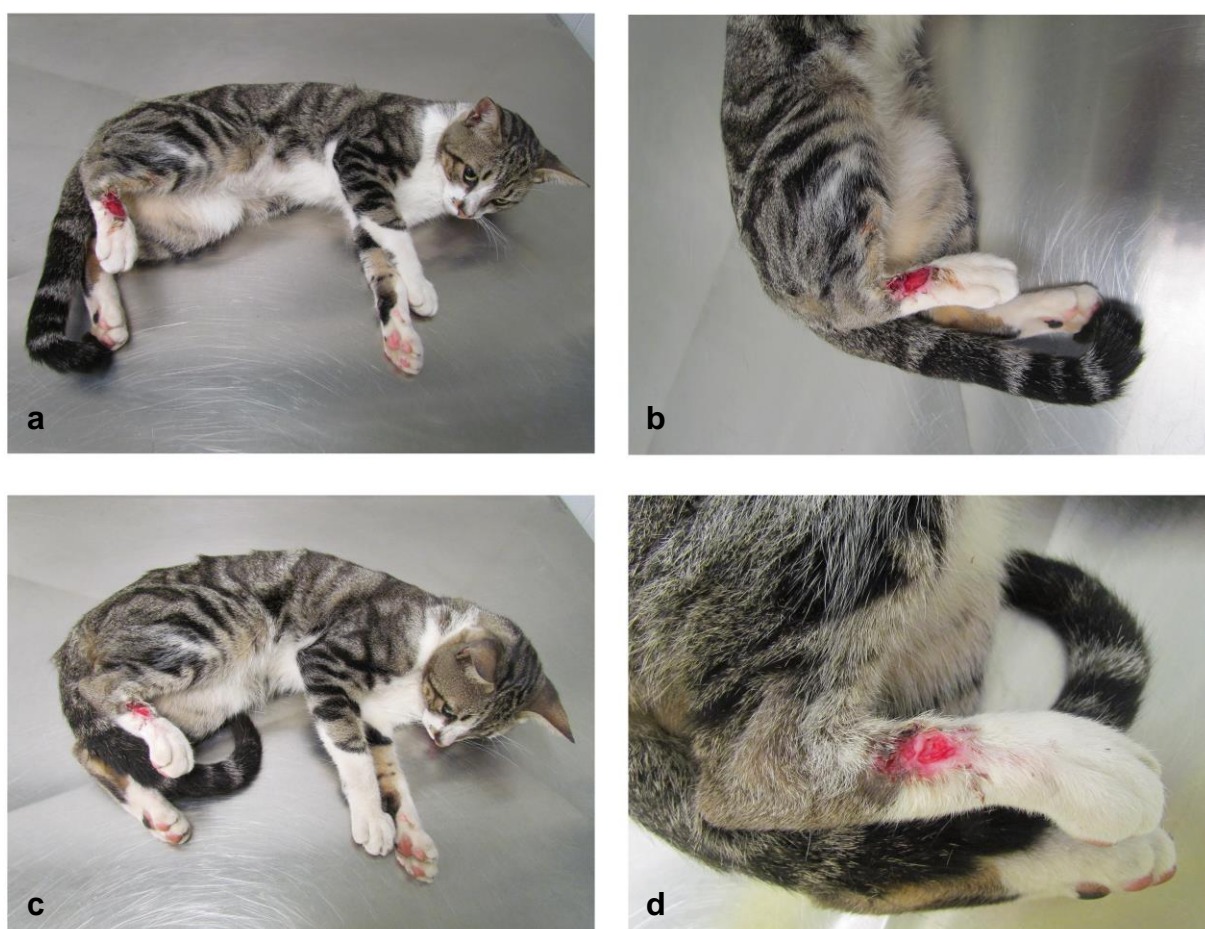


Figura 6. (a) Gato com esporotricose atendido no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz apresentando úlcera no membro posterior direito antes do tratamento; (b) foto aproximada da lesão no membro posterior direito; (c, d) estagnação da lesão após 20 semanas de tratamento com ITZ – Falha terapêutica.

Quadro 1. Características clínicas observadas nos gatos que apresentaram falha terapêutica (n=25) - grupo ITZ (G1); Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Gato	Causa da falha	Tipo de lesão	Local da lesão	Tempo de tratamento (semanas)
1	RAC "Grave" – Icterícia	N/A	N/A	17
2	Estagnação	Cutânea	RN	19
3	Estagnação	Cutânea	MP	20
4	Piora	Cutânea/Mucosa	Face, RN, MT, MP/ Nasal	13
5	Estagnação	Cutânea	Face, RN	13
6	Estagnação	Cutânea	RN	30
7	Estagnação	Cutânea	RN, Orelha	21
8	Estagnação	Cutânea/Mucosa	RN/Ocular	21
9	Piora	Cutânea/Mucosa	Face, MT, MP/Nasal	26
10	Estagnação	Mucosa	Nasal	14
11	Estagnação	Cutânea	RN, MP	18
12	Estagnação	Cutânea	MP, Orelha	19
13	Piora	Cutânea	RN	16
14	Piora	Cutânea	RN	14
15	Estagnação	Cutânea	MT	14
16	Piora	Mucosa	Nasal	19
17	Estagnação	Cutânea/Mucosa	Orelha/ Nasal	15
18	Estagnação	Cutânea/Mucosa	RN, Orelha/ Nasal	9
19	Piora	Cutânea/Mucosa	RN,Face,MA, MP, Cauda/ Nasal	7
20	RAC "Grave"; ALT marcante	N/A	N/A	7
21	Estagnação	Cutânea/Mucosa	RN/Nasal	9
22	Estagnação	Cutânea/Mucosa	RN/Nasal, Ocular	10
23	Piora	Cutânea/Mucosa	Face/Ocular	10
24	Estagnação	Cutânea/Mucosa	RN/Nasal	12
25	Estagnação	Cutânea	Sacral	14

RAC: Reação adversa clínica; N/A: Não se aplica; RN – Região nasal; MP- Membro pélvico; MT- Membro torácico

A coinfeção entre esporotricose e as retrovíruses FIV e/ou FeLV foi detectada no soro de 31 gatos (G1: n=13; G2: n=18) sendo FeLV a infecção mais prevalente (n=18; 21,7%) [Figura 7]. Dentre os gatos coinfectados, 23 obtiveram a cura clínica (G1: n=8; 66,6%; G2: n=15; 83,3%), em cinco casos houve perda de seguimento do tratamento (G1: n=2; 2,6%; G2: n=3; 10%) e três apresentaram falha terapêutica (G1: n=3; 10%).



Figura 7. Snap teste combo FIV/FeLV (IDEXX-Laboratories);
Exame positivo para antígenos de FeLV utilizando soro de gato com esporotricose.

A mediana da dose do ITZ no estudo foi de 24,4 mg/kg (15,6-33,3 mg/kg), enquanto a do KI foi de 2,9 mg/kg (2,5-12,5 mg/kg). Vinte e oito gatos necessitaram de incrementos na dose do KI (**Tabela 4**) e dois necessitaram de redução devido a reações adversas clínicas persistentes com a dose proposta. Apesar disso, não houve correlação entre o aumento da dose e maior tempo de tratamento ($p=0,06$).

Tabela 4: Gatos do grupo ITZ+KI (G2) que apresentaram resposta clínica insatisfatória e a mediana do aumento da dose do KI correspondente.

Lesão persistente	Gatos com incrementos na dose de KI	mg/kg*
(n=28)	(n,%)	(mediana; variação)
Cutânea	15; 53,6%	3,19 ; 2,5-9,52
Mucosa	2;7,1%	4,01; 3,12 – 8,11
Cutânea e mucosa	11; 39,3%	3,66 ; 2,5 – 12,5

* Refere-se a dose de KI em miligrama por kg de peso.

Em relação à administração do(s) fármaco(s), 150 (90,3%) responsáveis afirmaram que forneciam a(s) cápsula(s) aberta(s), junto ao alimento (**Tabela 5**). Ainda que essa forma de administração tenha sido adotada, não houve correlação entre a abertura da(s) cápsula(s) com desfecho desfavorável neste estudo (pFET=0,569).

Tabela 5: Descrição da forma de administração do(s) fármaco(s) nos 166 gatos com esporotricose incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Administração da(s) cápsula(s)	ITZ	ITZ+KI
(n=166)	(n,%)	(n,%)
Aberta*	76; 91,6%	74; 89,1%
Fechada	7 , 8,4%	9, 10,9%

*Dez animais do Grupo ITZ e 14 animais do grupo ITZ+KI receberam cápsulas ora abertas e ora fechadas, e foram então agrupados na forma “aberta” de administração do(s) fármaco(s).

7.2.4 Reações Adversas

Sessenta e um gatos (36,7%) apresentaram reações adversas clínicas relacionadas ao tratamento, independentemente da dose ou do tempo de administração do fármaco. A frequência dessas reações está descrita na **tabela 6**.

Tabela 6: Reações adversas clínicas observadas nos gatos com esporotricose submetidos ao tratamento com ITZ e ITZ+KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Tipo de reação adversa	ITZ (n;%)	ITZ+KI (n;%)
Hiporexia + emagrecimento	8; 22,3%	17; 38,6%
Hiporexia+ apatia+emagrecimento	9; 25%	8; 18,2%
Hiporexia	4; 11,2%	4; 9,1%
Vômito	3; 8,3%	2; 4,5%
Hiporexia + vômito	2; 5,5%	2; 4,5%
Anorexia+apatia+emagrecimento	2; 5,5%	4; 9,1%
Hiporexia + vômito+ emagrecimento	2; 5,5%	-
Hiporexia + apatia	2; 5,5%	3; 6,8%
Anorexia + vômito+ apatia+ emagrecimento	1; 2,8%	-
Hiporexia+vômito+apatia+emagrecimento	1; 2,8%	-
Hiporexia + diarreia+ apatia+ emagrecimento	1; 2,8%	-
Hiporexia+vômito+apatia	1; 2,8%	-
Apatia	-	1; 2,3%
Vômito+ emagrecimento	-	1; 2,3%
Anorexia+emagrecimento	-	1; 2,3%
Diarreia+emagrecimento	-	1; 2,3%
Total de reações	36	44

A frequência de reações adversas entre o grupo ITZ e o grupo de associação entre ITZ e KI foi similar tanto para reações clínicas quanto para alteração das transaminases hepáticas. O teste de log-rank não indicou correlação entre o grupo de tratamento e o tempo até a ocorrência dessas reações (**Tabela 7**).

Tabela 7: Comparação entre o tempo e a ocorrência de reações adversas por grupo de tratamento nos gatos com esporotricose incluídos no estudo; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Evento	ITZ (n,%)	ITZ+KI (n,%)	P-valor (Log-rank)
Reações adversas clínicas	28; 33,7%	33; 39,7%	p=0,500
Elevação das transaminases hepáticas	50; 60,2.%	43; 51,8%	p=0,096

A maior ocorrência de reações adversas clínicas e de elevação das transaminases hepáticas em ambos os grupos de tratamento ocorreu no primeiro mês após a introdução do(s) fármaco(s) (**Gráfico 6 e 7** respectivamente). Ademais, não foi encontrada correlação (teste de wald) entre o aumento da dose de KI e a taxa de reações adversas clínicas (p=0,98) e elevação das transaminases (p=0,084) no grupo da associação dos fármacos.

Em relação a outras análises bioquímicas, doze gatos apresentaram elevação da creatinina sérica (G1: n=5; G2: n=7) em apenas uma consulta do seguimento do tratamento e seus níveis retornaram aos limites de normalidade após manejo alimentar.

A interrupção temporária do(s) fármaco(s) ocorreu em 16 animais do grupo ITZ e 21 animais do grupo de associação entre ITZ e KI. O tempo de interrupção entre os grupos foi similar, entre 7 e 20 dias, devido a reações adversas clínicas (G1: n=4; G2: n=9) e sua associação com o aumento das transaminases (G1: n=12; G2: n= 12).

Dois animais do grupo ITZ apresentaram anorexia, emagrecimento, apatia, icterícia e foram retirados do estudo por alterações clínicas graves e laboratoriais marcantes (interrupção definitiva), **Anexos B e C** respectivamente.

As anormalidades do painel bioquímico foram transitórias com a diminuição dos níveis das transaminases nas medições posteriores, as quais retornaram a níveis de referência após interrupção temporária do(s) fármaco(s) e/ou terapia com hepatoprotetor.

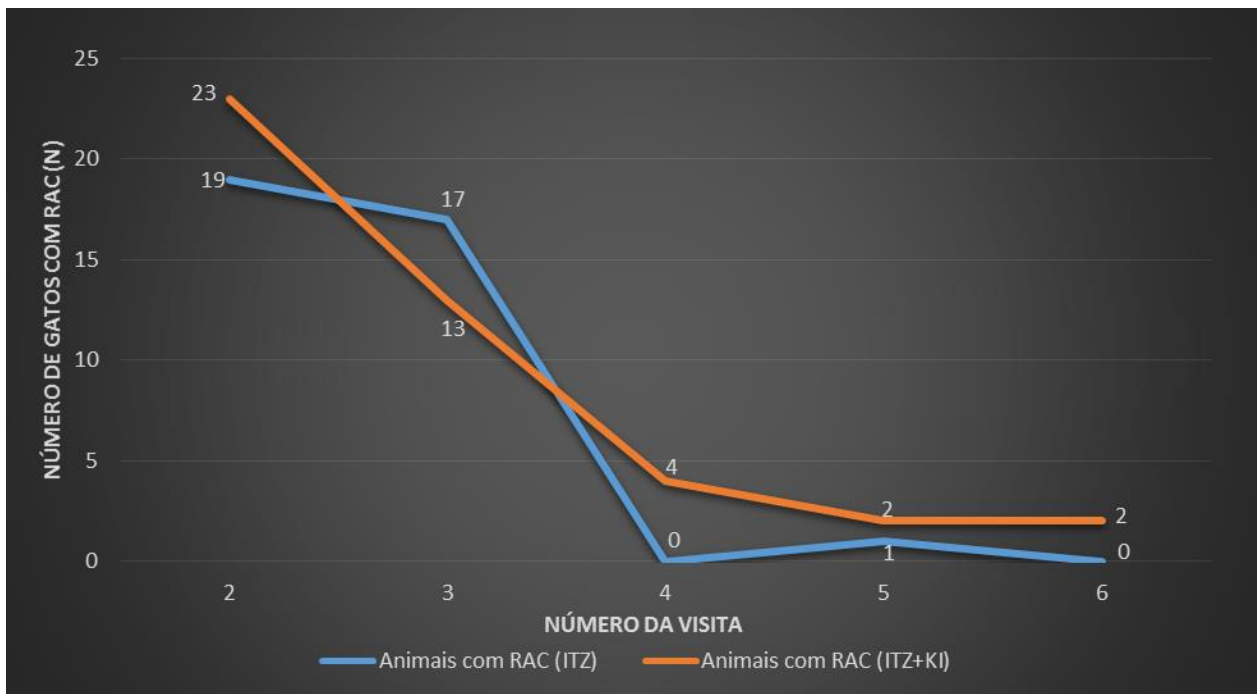


Gráfico 6. Número de gatos com reações adversas clínicas (RAC) durante o seguimento terapêutico, de acordo com o grupo de tratamento; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

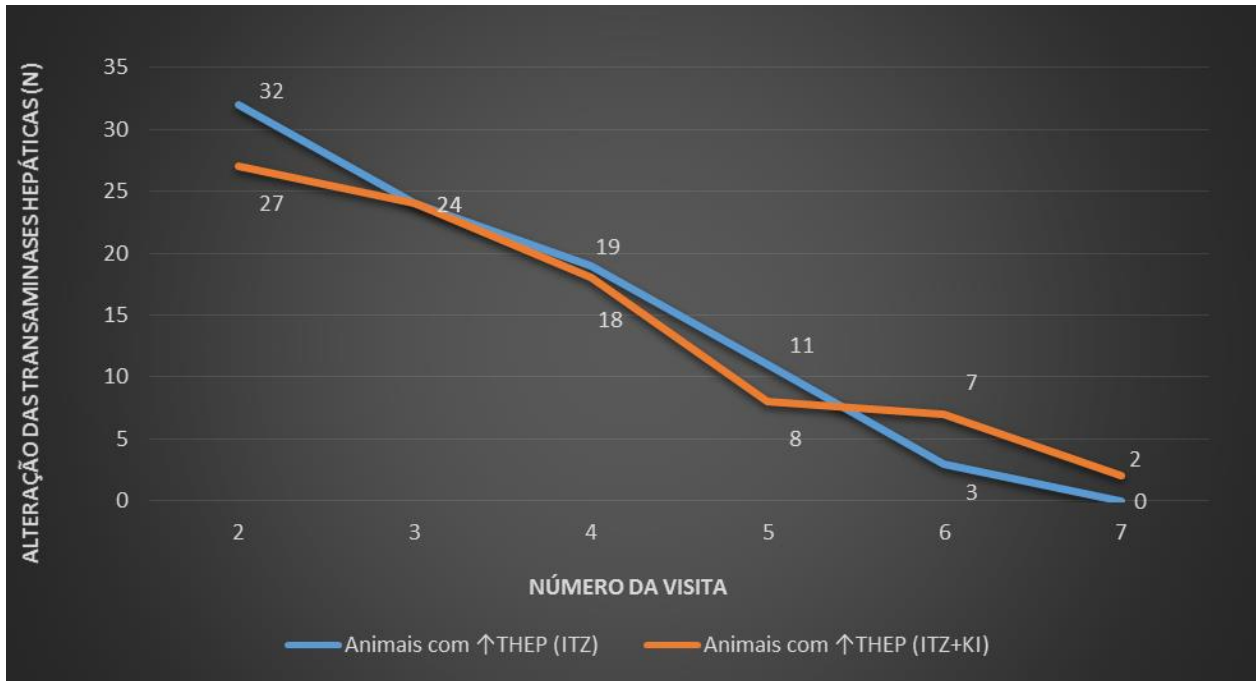


Gráfico 7. Número de gatos com alteração das transaminases hepáticas (THEP) durante o seguimento terapêutico, de acordo com o grupo de tratamento; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

7.2.5 Modelo de regressão de Cox

Inicialmente foi realizada a construção do modelo univariado de Cox (**Tabela 8**), no qual os preditores considerados de interesse clínico-epidemiológico foram incluídos e analisados individualmente e em suas categorias, em relação ao desfecho "cura", sendo o tempo a variável dependente. Para esta etapa adotamos nível de significância de 15%.

Tabela 8: Modelo Univariado de Cox para avaliação das variáveis clínico-epidemiológicas de interesse nos 166 gatos com esporotricose incluídos no estudo e tratados com ITZ e ITZ + KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Variáveis	Modelo Univariado	
	HR (IC95%)	P-valor
Grupo de tratamento		
ITZ	1	
ITZ + KI	1,77 (1,21-2,59)	<0,01
Estado Geral		
Bom	1	
Reg ou Péssimo	0,53 (0,28-1,02)	0,06
Sexo		
Macho	1	
Fêmea	1,18 (0,79-1,78)	0,42
Idade		
Mediana (IQR)	0,99 (0,98-1)	0,19
Sinais respiratórios		
Sim	1	
Não	3 (1,74-5,17)	<0,01
Lesão mucosa		
Sim	1	
Não	2,36 (1,56-3,58)	<0,01
Distribuição das lesões cutâneas		
L3	1	
L2	1,76 (1,12-2,78)	0,01
L1	1,79 (1,15-2,81)	0,01
Linfadenopatia		
Sim	1	
Não	1,06 (0,72-1,55)	0,76

Linfangite		
Sim	1	
Não	0,55 (0,34-0,84)	0,01
Acesso à rua		
Sim	1	
Não	0,96 (0,64-1,44)	0,85
Castração		
Não	1	
Sim	1,78 (1,22-2,58)	<0,01
Sorologia FIV/FeLV		
Positivo	1	
Negativo	0,96 (0,6-1,52)	0,85
Reação adversa		
Sim	1	
Não	1,29 (0,84-1,97)	0,25
Interrupção temporária		
Sim	1	
Não	1,41 (0,68-2,93)	0,35

HR – Hazard ratio; IC – Intervalo de confiança; ITZ – Itraconazol; KI – Iodeto de potássio; L1 – Lesões cutâneas em 1 sítio anatômico; L2 - Lesões cutâneas em 2 sítios anatômicos não contíguos; L3 Lesões cutâneas em 3 ou mais sítios anatômicos não contíguos.

Após essa análise inicial, construímos o modelo multivariado onde a entrada e a saída dessas variáveis foram realizadas quando a mesma perdia a significância estatística ($p > 0,05$), com base no teste de Wald.

Na análise multivariada, os preditores que se mantiveram associados à cura clínica foram: “Grupo ITZ+KI” (HR= 1,77, IC_{95%}=1,2 - 2,62); Ausência de sinais respiratórios (HR=2,09, IC_{95%}=1,14-3,83); Ausência de lesão mucosa (HR=1,74, IC_{95%}=1,09-2,78); Grupo L1 (HR=2,24, IC_{95%}=1,39-3,61); Grupo L2 (HR=2,08, IC_{95%}=1,3-3,32) e “Ser castrado” (HR=1,78, IC_{95%}=1,22-2,58). As probabilidades preditas pelo modelo multivariado final logístico estão descritas na **tabela 9**.

Tabela 9: Modelo de regressão de Cox ajustado e controlado por grupo de tratamento dos 166 gatos com esporotricose incluídos no estudo e tratados com ITZ e ITZ + KI; Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Variáveis	Cura		Modelo Multivariado	
	Não (N=51) n (%)	Sim (N=115) n (%)	HR (IC95%)	P-valor
Grupo de tratamento				
ITZ	41 (49,4)	42 (50,6)	1	
ITZ + KI	10 (12)	73 (88)	1,77 (1,2-2,62)	<0,01
Sinais respiratórios				
Sim	22 (41,5)	31 (58,5)	1	
Não	29 (25,7)	84 (74,3)	2,09 (1,14-3,83)	0,02
Lesão mucosa				
Sim	27 (45,8)	32 (54,2)	1	
Não	24 (22,4)	83 (77,6)	1,74 (1,09-2,78)	0,02
Distribuição das lesões cutâneas				
L3	28 (40,6)	41 (59,4)	1	
L2	9 (20,5)	35 (79,5)	2,08 (1,3-3,32)	<0,01
L1	14 (26,4)	39 (73,6)	2,24 (1,39-3,61)	<0,01
Linfangite				
Sim	6 (20,7)	23 (79,3)	1	
Não	45 (32,8)	92 (67,2)	0,46 (0,28-0,76)	<0,01
Castração				
Não	34 (41,5)	48 (58,5)	1	
Sim	14 (17,3)	67 (82,7)	1,78 (1,22-2,58)	<0,01

HR – Hazard ratio; IC – Intervalo de confiança; ITZ – Itraconazol; KI – Iodeto de potássio; L1 – Lesões cutâneas em 1 sítio anatômico; L2 - Lesões cutâneas em 2 sítios anatômicos não contíguos; L3 Lesões cutâneas em 3 ou mais sítios anatômicos não contíguos.

Segundo o modelo final logístico, a associação dos fármacos apresentou 1,77 vezes o valor de cura do grupo controle (ITZ), ou seja, a probabilidade de cura no grupo associação foi 77% maior, mesmo quando controlado por “Sinais respiratórios”, “Lesão mucosa”, “Distribuição das lesões cutâneas” e “Castração”. Por fim, o modelo de regressão apresentado nesse estudo não violou a hipótese dos riscos serem proporcionais de acordo com os resíduos de Schoenfeld (**Apêndice D**).

7.2.6 Seguimento pós-terapêutico

A avaliação clínica e laboratorial três meses após a alta foi realizada em 90 gatos (G1: n=34/42; G2: n=56/73). Sessenta e nove gatos permaneceram curados (G1: n=25, 73,5%; G2: n=44, 78,6%), 14 apresentaram recidiva de lesão (G1: n=5, 14,7%; G2: n=9, 16,1%) e sete gatos apresentaram reinfecção exógena (G1: n=4, 11,8%; G2: n=3, 5,3%). No **Quadro 2**, observam-se as características clínicas dos animais que apresentaram reativação de lesão na consulta pós alta. Embora gatos do grupo ITZ+KI tenham apresentado maior frequência de recidiva, sua ocorrência não está associada ao grupo de tratamento ($p_{FET}=0,7$). Também não foram encontradas associações com as variáveis “acesso à rua”, “FIV e/ou FeLV”, “Lesão mucosa na primeira consulta”, “Sinais respiratórios na primeira consulta” e “tempo de tratamento”. A **Figura 8** ilustra um gato com esporotricose apresentando reativação de lesão na consulta de seguimento pós-terapêutico.

Quadro 2. Ocorrência de recidiva nos gatos incluídos no estudo observada durante o período de seguimento pós-terapêutico; Lapclin- Dermzoo/INI/Fiocruz (2013-2016).

Gato	Grupo de tratamento	Tempo de tratamento (semanas)	Forma clínica recorrente
1	ITZ	13	Cutânea
2	ITZ	10	Cutânea e Mucosa
3	ITZ	11	Cutânea e Mucosa
4	ITZ	25	Cutânea
5	ITZ	13	Cutânea
6	ITZ+KI	33	Cutânea e Mucosa
7	ITZ+KI	14	Cutânea
8	ITZ+KI	20	Cutânea
9	ITZ+KI	10	Cutânea
10	ITZ+KI	17	Cutânea e Mucosa
11	ITZ+KI	9	Cutânea
12	ITZ+KI	8	Cutânea
13	ITZ+KI	38	Cutânea e Mucosa
14	ITZ+KI	12	Cutânea



Figura 8. (a) Gato com esporotricose atendido no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz apresentando úlcera na cauda antes do tratamento; (b) foto aproximada da lesão em base da cauda; (c) cicatrização da lesão após 8 semanas de tratamento com ITZ+KI; (d) reativação da lesão 8 semanas após suspensão dos fármacos.

8 DISCUSSÃO

A esporotricose persiste como uma doença negligenciada no Rio de Janeiro, afetando principalmente uma área socioeconomicamente desfavorecida. O tratamento dessa doença em gatos é difícil e a monoterapia com ITZ tem taxa de cura variável. A associação de ITZ e KI tem sido utilizada com sucesso em infecções fúngicas de difícil resolução. Esses resultados inspiraram a equipe do Lapclin-Dermzoo a conduzirem um ensaio clínico controlado em gatos.

Esse estudo avaliou a efetividade da associação de ITZ+KI em comparação com ITZ no tratamento da esporotricose felina em um total de 166 pacientes sem tratamento antifúngico prévio, a maior cauística estudada com esses fármacos até o momento. Nesse ensaio randomizado e controlado, os grupos estudados foram altamente homogêneos em relação a características clinico-epidemiológicas.

A prevalência de gatos machos, adultos jovens, não castrados e que têm acesso à rua neste estudo corrobora os estudos de Pereira¹⁴⁵, Miranda⁸⁰, Reis⁹⁸, Pereira⁷⁹ e Schubach⁴, que avaliaram gatos da mesma região epidêmica.

As lesões mais frequentes em gatos com esporotricose são nódulos e úlceras cutâneas, as quais geralmente se localizam na cabeça, extremidades de membros e cauda ¹¹². A forma cutânea e localização das lesões na região cefálica foram os achados predominantes nos dois grupos de tratamento, confirmando que esta forma é a apresentação clínica mais comum da esporotricose felina. A localização predominante de lesões na região cefálica é provavelmente devido a esta região estar mais exposta durante as brigas. Os achados desse estudo foram similares a outros provenientes da mesma área endêmica ^{4, 12, 79, 98}.

Apesar da forma cutânea apresentar-se recorrentemente, o envolvimento extracutâneo também é descrito na esporotricose felina; principalmente com a presença de sinais respiratórios, lesão mucosa e linfadenopatia ¹¹². Neste estudo, linfadenopatia (81,9%) foi o sinal mais observado, seguido pelo envolvimento de mucosas (35,5%) e

sinais respiratórios (31,9%). O acometimento de mucosas em gatos é bem comum, especialmente o da mucosa nasal, combinado ou não à rinorreia e espirros ^{4, 79, 98}.

Até o momento, o ITZ permanece como o fármaco de escolha no tratamento da esporotricose felina. No entanto, casos de falha terapêutica, baixos índices de cura e longo tempo de tratamento têm sido reportados ^{79, 133}. Nesses casos, o KI em cápsulas usado como monoterapia¹⁴⁶ ou em associação ao ITZ pode ser uma alternativa ao tratamento ¹². A associação entre ITZ e KI também foi descrita no tratamento da esporotricose humana ^{9, 54} e em outras infecções fúngicas ^{7, 10}.

Neste estudo, o tratamento com ITZ+KI (88%) foi superior e mais efetivo que o observado com ITZ (50,6%) e, em comparação às taxas descritas por outros autores da mesma região endêmica que utilizaram a monoterapia com ITZ (38,3%)⁷⁹, KI (47,9%)⁹⁸ e a associação dos fármacos em gatos refratários ao ITZ (63,2%)¹². A superioridade da associação dos fármacos (ITZ+KI) pode ser explicada pela ação fungicida do ITZ somada à ação imunomoduladora do KI, que poderia promover o aumento da resposta fagocítica mononuclear e a melhora do estado geral do animal, além da lise fúngica. Esses fatores podem contribuir para uma melhor resposta terapêutica do animal frente à infecção.

Dentre os gatos que apresentaram sorologia positiva para FIV e/ou FeLV, 23 (74,2%) alcançaram a completa remissão dos sinais clínicos durante o tratamento. Esses resultados corroboram outros autores ^{4, 79, 147} que também não verificaram uma associação entre as retrovirose e o desfecho negativo para esporotricose. Contudo, o estado de imunossupressão não foi avaliado nesse estudo.

Classicamente, a dose de ITZ descrita na literatura varia de 5–10 mg/kg, enquanto a de KI é de 20 mg/kg. Mais recentemente, o protocolo terapêutico foi modificado pelo grupo de pesquisa do Lapclin-Dermzoo, onde doses maiores de ITZ foram necessárias para promover a cura clínica (8,3.-27,7 mg/kg) ⁷⁹. Na associação dos fármacos, o mesmo grupo recomenda que o KI seja iniciado na dose mínima de 2,5 mg/kg e aumentado até 20 mg/kg em esquema de escalonamento ¹⁴⁸ em caso de necessidade terapêutica.

A mediana da dose de ITZ utilizada nesse estudo foi 24,4 mg/kg e a de KI foi 2,9 mg/kg. Esses resultados indicam que a associação dos fármacos é capaz de promover a remissão dos sinais clínicos mesmo com dose de KI inferior à reportada na literatura. Contudo, o menor número de gatos com envolvimento de mucosas e/ou sinais respiratórios, quando comparado a outros estudos, pode ter contribuído para a utilização de doses mais baixas já que esses sinais parecem dificultar a cura⁷⁹.

Com relação à mediana do tempo de tratamento, não houve diferença significativa entre os grupos ITZ e ITZ+KI (md=15; p=0,21), porém este tempo foi inferior a outros estudos que utilizaram a monoterapia com ITZ (md=26 semanas)⁷⁹ e a associação entre ITZ+KI em gatos refratários (md= 20 semanas)¹². Embora a mediana do tempo de tratamento tenha sido de 15 semanas, a mediana até a remissão dos sinais clínicos foi 9,5 semanas, o que correspondeu à primeira evidência de cura. A maior divulgação da doença em meios de comunicação pode ter alertado os responsáveis pelos animais e médicos veterinários de áreas “endêmicas”, contribuindo indiretamente para a rápida procura as assistências médico veterinárias, auxiliando no diagnóstico precoce e a pronta instituição da terapia.

As reações adversas apresentadas no tratamento da esporotricose felina são frequentemente descritas e as mais comumente observadas são anorexia, hiporexia e elevação de ALT, que são consideradas dose-dependentes de ITZ¹⁴⁹ e KI⁹⁸. Hiporexia, vômitos e diarreia foram associados ao uso de ITZ⁷⁹, enquanto hiporexia, apatia e emagrecimento foram observados na monoterapia com KI⁹⁸, NaI¹¹⁷ e com a associação de ITZ e KI em gatos refratários ao ITZ¹².

A frequência das reações adversas clínicas não diferiram estatisticamente entre os grupos de tratamento nesse ensaio clínico e foram similares às descritas no estudo comparativo entre cetoconazol (42,1%) e ITZ (30,9%)⁷⁹. Em relação à associação entre ITZ e KI, a frequência de reações adversas clínicas apresentadas nesse estudo foi inferior ao descrito por Rocha¹² (39,7% vs 76,3%, respectivamente). Isso pode ser explicado pelo tempo de tratamento prévio com ITZ nos gatos refratários (md=12 semanas).

A elevação das enzimas hepáticas foi descrita em 56% dos animais incluídos no ensaio clínico, número muito superior ao apresentado na monoterapia com KI (27,1%)⁹⁸ e em gatos tratados com ITZ (19,2%)¹³³. Não foi possível comparar esses resultados com os descritos na associação dos fármacos em gatos refratários¹², devido à diferença na padronização dos limites bioquímicos. Embora a elevação das transaminases hepáticas seja comum e descrita com a utilização de ITZ, não há ensaios clínicos que descrevam o perfil hepático e/ou bioquímico desses animais. Os resultados apresentados até o momento são baseados em séries de casos, o que pode subestimar o verdadeiro cenário.

Dois gatos do grupo ITZ foram retirados do ensaio clínico devido à anorexia, emagrecimento, icterícia e elevação marcante de ALT. Dois gatos do grupo ITZ+KI apresentaram intolerância ao ITZ (100 mg) e exigiram maior tempo de interrupção temporária do fármaco (20 dias). As alterações das transaminases hepáticas desses gatos foram classificadas como leve e retornaram a níveis normais nas medições posteriores.

Ensaio clínicos controlados, randomizados e duplo cegos são considerados metodologicamente como “padrão ouro” na avaliação de intervenções terapêuticas. Contudo, não foi possível realizar o cegamento nesse ensaio visto que os elevados custos operacionais combinados à necessidade de uma equipe multidisciplinar constituíram alguns obstáculos para tal. Além disso, a dose do KI pode variar de acordo com a resposta terapêutica do gato, o que dificulta o manejo desse fármaco de forma cega.

O tratamento com ITZ e KI foi associado com a resolução completa dos sinais clínicos (HR= 1,77) em relação ao grupo ITZ, mesmo quando controlado por “sinais respiratórios” e “lesão mucosa”, sugerindo que a associação dos fármacos poderia representar uma melhor opção terapêutica, especialmente nesses casos. Não houve diferenças estatísticas no que concerne reações adversas entre os grupos de tratamento, demonstrando que a terapia com ITZ e KI é mais efetiva e com o mesmo nível de segurança da terapia com ITZ. No entanto, a taxa de incidência de cura foi

reduzida em gatos do grupo L3, sugerindo que nesses casos, mesmo com a associação dos fármacos, o prognóstico é reservado.

Diante dos resultados apresentados nesse estudo, concluímos que a associação dos fármacos emerge como uma terapia efetiva e de primeira escolha para o tratamento da esporotricose felina. Apesar da associação entre ITZ e KI ter sido mais efetiva que a monoterapia com ITZ, outros ensaios são necessários para o estabelecimento de novas opções terapêuticas; especialmente aquelas com menor percentual de reações adversas e menor número de reativações.

9 CONCLUSÃO

- Os gatos incluídos no grupo ITZ e ITZ+KI foram homogêneos quanto às características clínicas e epidemiológicas;
- O tempo de tratamento necessário para atingir a cura e a alta foi similar nos dois grupos, no entanto gatos do grupo ITZ+KI apresentaram a distribuição do tempo de tratamento até a alta de forma mais homogênea;
- A associação dos fármacos ITZ + KI promove reações adversas clínicas e alteração das transaminases hepáticas, porém, estas reações são similares as apresentadas pelo grupo ITZ;
- Os preditores “Sinais respiratórios”, “Lesão mucosa” e grupo L3 foram inversamente associados à cura clínica, com redução da taxa de incidência de cura em 52%, 42% e 56% respectivamente;
- O percentual de recidivas dos gatos reavaliados foi similar em ambos os grupos de tratamento;
- A associação dos fármacos ITZ+KI se mostrou mais efetiva e igualmente segura em comparação a monoterapia com ITZ, tornando-se então a terapia de eleição para o tratamento da esporotricose em gatos provenientes da região hiperendêmica do Rio de Janeiro.

10 EQUIPE

a) Pesquisadores

- Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos- INI/Fiocruz

Membros da Equipe	Titulação	Função
Érica Guerino dos Reis	Doutoranda - INI	Atendimento clínico, coleta de material
Isabella Dib Ferreira Gremião	Doutora	Orientação e apoio técnico
Jéssica Nunes Silva	Doutora – UFRGS	Coleta de material e diagnóstico citopatológico
Sandro Antônio Pereira	Doutor	Apoio técnico
Tânia Maria Valente Pacheco	Doutora	Orientação

b) Colaboradores

- Serviço de Anatomia Patológica - INI/ Fiocruz
- Laboratório de Micologia - INI/ Fiocruz
- Laboratório de Análises Clínicas (Hematologia) - INI/ Fiocruz
- Laboratório de Análises Clínicas (Bioquímica) - INI/ Fiocruz
- Serviço de Farmácia - INI/ Fiocruz

c) Iniciação científica (PIBIC) – FAPERJ

- Bruna Fernandes Serrano Salgueirinho – Graduanda Medicina Veterinária/UFF

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Carlos IZ, Batista-Duarte A. Sporotrichosis: An Emergent Disease. In: Carlos IZ, ed. *Sporotrichosis: New Developments and Future Prospects*: Springer 2015:1-23.
- [2] Barros MB, de Almeida Paes R, Schubach AO. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. *Clin Microbiol Rev*. 2011 Oct;24(4):633-654.
- [3] Barros MBL, Schubach A, Francesconi-do-Valle AC, Gutierrez Galhardo MC, Conceição-Silva F, Schubach TMP, et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. *Clin Infect Dis*. 2004 Feb 15;38(4):529-535.
- [4] Schubach TM, Schubach A, Okamoto T, Barros MB, Figueiredo FB, Cuzzi T, et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). *J Am Vet Med Assoc*. 2004 May 15;224(10):1623-1629.
- [5] Almeida-Paes R, de Oliveira MM, Freitas DF, do Valle AC, Zancope-Oliveira RM, Gutierrez-Galhardo MC. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* is associated with atypical clinical presentations. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Sep;8(9):e3094.
- [6] Rodrigues AM, de Melo Teixeira M, de Hoog GS, Schubach TM, Pereira SA, Fernandes GF, et al. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 Jun;7(6):e2281.
- [7] Gupta M, Narang T, Kaur RJ, Manhas A, Saikia UN, Dogra S. A prospective case series evaluating efficacy and safety of combination of itraconazole and potassium iodide in rhinofacial conidiobolomycosis. *Int J Dermatol*. 2015 Feb;55(2):208-214.
- [8] Gurcan S, Konuk E, Kilic H, Otkun M, Ener B. Sporotrichosis, a disease rarely reported from Turkey, and an overview of Turkish literature. *Mycoses*. 2007 Sep;50(5):426-429.
- [9] Jiang Z, Wang K, Jiang R, Zhu M. Clinical analysis of potassium iodide combined with itraconazole in treating 24 cases of sporotrichosis. *The Chinese Journal of Dermatovenereology*. 2009 (3).
- [10] Mendiratta V, Karmakar S, Jain A, Jabeen M. Severe cutaneous zygomycosis due to *Basidiobolus ranarum* in a young infant. *Pediatr Dermatol*. 2012 Jan-Feb;29(1):121-123.
- [11] Shinogi T, Misago N, Narisawa Y. Cutaneous sporotrichosis with refractory and reinfectious lesions in a healthy female. *J Dermatol*. 2004 Jun;31(6):492-496.
- [12] Rocha RFD. Tratamento da esporotricose felina refratária com a associação de iodeto de potássio e itraconazol oral. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado] - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas; 2014.
- [13] Schenck B. On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the *Sporotricha*. *Bull Johns Hopkins Hosp*. 1898;240(93):286-290.

- [14] Hektoen L, Perkins CF. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*, a new pathogenic fungus J Exp Med. 1900;5:77-89.
- [15] De Beurmann L, Ramond. Abscesses sous-cutanées multiples d'origine mycosique. Ann Dermatol Syphiligr (Paris). 1903;4(4):678-685.
- [16] De Beurmann L, Gougerot H. Les sporotrichoses. Paris: Librairie Félix Alcan 1912.
- [17] Lutz A, Splendore A. Sobre uma mycose observada em homens e ratos. Rev Med São Paulo. 1907; 21:433-450.
- [18] Donadel K, Reinoso Y, Oliveira J, Azulay RE. Esporotricose: revisão. An Bras Dermatol. 1993;68(1):45-52.
- [19] Leão AEA, Silva Jr O, Proença M. Sur un cas de Sporotrichose à *Sporotrichum beurmann* observe par la première fois chez un mulet à Rio de Janeiro. C R Soc Biol. 1934; 116:1157-1158.
- [20] Freitas D, Migliano M, Zani Neto L. Esporotricose - Observação de caso espontâneo em gato doméstico (*F. catus*). Rev Fac Med Vet Univ S Paulo. 1956;5(4):601-604.
- [21] Baroni FA, Campos SG, Direito GM. Esporotricose em gato (Descrição de um caso). Rev Bras Med Veterin. 1998;20(1):25-27.
- [22] Cruz LCH. Complexo *Sporothrix schenckii*. Revisão de literatura e considerações sobre o diagnóstico e a epidemiologia. Vet e Zootec. 2013;20(Educação comemorativa):08-28.
- [23] Barros MB, Schubach AO, Schubach TM, Wanke B, Lambert-Passos SR. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. Epidemiol Infect. 2008;136(9):1192-1196.
- [24] Rippon J. Sporotrichosis. In: Rippon J, ed. *Medical Mycology - The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company 1988: p. 325-352.
- [25] Kwon-Chung K, Bennet J. Sporotrichosis. In: Kwon-Chung K, Bennet J, eds. *Medical Mycology*. 1st ed. Philadelphia: Lea & Febiger 1992:707-729.
- [26] Queiroz-Telles F, Nucci M, Colombo AL, Tobon A, Restrepo A. Mycoses of implantation in Latin America: an overview of epidemiology, clinical manifestations, diagnosis and treatment. Med Mycol. 2011 Apr;49(3):225-236.
- [27] Lopez-Romero E, Reyes-Montes Mdel R, Perez-Torres A, Ruiz-Baca E, Villagomez-Castro JC, Mora-Montes HM, et al. *Sporothrix schenckii* complex and sporotrichosis, an emerging health problem. Future Microbiol. 2011 Jan;6(1):85-102.
- [28] Oliveira MM, Almeida-Paes R, Gutierrez-Galhardo MC, Zancopé-Oliveira RM. Molecular identification of the *Sporothrix schenckii* complex. Rev Iberoam Micol. 2014 Jan-Mar;31(1):2-6.
- [29] Sanchotene KO, Madrid IM, Klafke GB, Bergamashi M, Della Terra PP, Rodrigues AM, et al. *Sporothrix brasiliensis* outbreaks and the rapid emergence of feline sporotrichosis. Mycoses. 2015 Nov;58(11):652-658.
- [30] Gutierrez-Galhardo MC, Freitas DF, Valle ACF, Almeida-Paes R, Oliveira MME, Zancopé-Oliveira RM. Epidemiological Aspects of Sporotrichosis Epidemic in Brazil. Curr Fungal Infect Rep. 2015;9(4):238-245.

- [31] Arrillaga-Moncrieff I, Capilla J, Mayayo E, Marimon R, Marine M, Gene J, et al. Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model. *Clin Microbiol Infect*. 2009 Jul;15(7):651-655.
- [32] Fernandes GF, dos Santos PO, Rodrigues AM, Sasaki AA, Burger E, de Camargo ZP. Characterization of virulence profile, protein secretion and immunogenicity of different *Sporothrix schenckii sensu stricto* isolates compared with *S. globosa* and *S. brasiliensis* species. *Virulence*. 2013 Apr 1;4(3):241-249.
- [33] Tellez MD, Batista-Duarte A, Portuondo D, Quinello C, Bonne-Hernandez R, Carlos IZ. *Sporothrix schenckii* complex biology: environment and fungal pathogenicity. *Microbiology*. 2014 Nov;160(Pt 11):2352-2365.
- [34] Brilhante RS, Rodrigues AM, Sidrim JJ, Rocha MF, Pereira SA, Gremiao ID, et al. In vitro susceptibility of antifungal drugs against *Sporothrix brasiliensis* recovered from cats with sporotrichosis in Brazil. *Med Mycol*. 2015 Nov 21.
- [35] Montenegro H, Rodrigues AM, Dias MA, da Silva EA, Bernardi F, de Camargo ZP. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. *BMC Vet Res*. 2014; 10:269.
- [36] Oliveira MM, Almeida-Paes R, Muniz MM, Gutierrez-Galhardo MC, Zancoppe-Oliveira RM. Phenotypic and molecular identification of *Sporothrix* isolates from an epidemic area of sporotrichosis in Brazil. *Mycopathologia*. 2011 Oct;172(4):257-267.
- [37] Chakrabarti A, Bonifaz A, Gutierrez-Galhardo MC, Mochizuki T, Li S. Global epidemiology of sporotrichosis. *Med Mycol*. 2015 Jan;53(1):3-14.
- [38] Zhou X, Rodrigues A, Feng P, de Hoog G. Global ITS diversity in the *Sporothrix schenckii* complex. *Fungal Divers*. 2014 May;66(1):153-165.
- [39] Kano R, Okubo M, Siew HH, Kamata H, Hasegawa A. Molecular typing of *Sporothrix schenckii* isolates from cats in Malaysia. *Mycoses*. 2015 Apr;58(4):220-224.
- [40] Madrid H, Cano J, Gene J, Bonifaz A, Toriello C, Guarro J. *Sporothrix globosa*, a pathogenic fungus with widespread geographical distribution. *Rev Iberoam Micol*. 2009 Sep 30;26(3):218-222.
- [41] de Oliveira MM, Verissimo C, Sabino R, Aranha J, Zancoppe-Oliveira RM, Sampaio P, et al. First autochthonous case of sporotrichosis by *Sporothrix globosa* in Portugal. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014 Apr;78(4):388-390.
- [42] de Oliveira MM, de Almeida-Paes R, de Medeiros Muniz M, de Lima Barros MB, Galhardo MC, Zancoppe-Oliveira RM. Sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa* in Rio de Janeiro, Brazil: case report. *Mycopathologia*. 2010 May;169(5):359-363.
- [43] de Araujo ML, Rodrigues AM, Fernandes GF, de Camargo ZP, de Hoog GS. Human sporotrichosis beyond the epidemic front reveals classical transmission types in Espirito Santo, Brazil. *Mycoses*. 2015 Aug;58(8):485-490.
- [44] Oliveira MM, Maifrede SB, Ribeiro MA, Zancoppe-Oliveira RM. Molecular identification of *Sporothrix* species involved in the first familial outbreak of sporotrichosis in the state of Espirito Santo, southeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013 Nov;108(7):936-938.
- [45] Marimon R, Cano J, Gene J, Sutton DA, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. *J Clin Microbiol*. 2007 Oct;45(10):3198-3206.

- [46] Dias NM, Oliveira MM, Santos C, Zancope-Oliveira RM, Lima N. Sporotrichosis caused by *Sporothrix Mexicana*, Portugal. *Emerg Infect Dis*. 2011 Oct;17(10):1975-1976.
- [47] Oliveira DC, Lopes PG, Spader TB, Mahl CD, Tronco-Alves GR, Lara VM, et al. Antifungal susceptibilities of *Sporothrix albicans*, *S. brasiliensis*, and *S. luriei* of the *S. schenckii* complex identified in Brazil. *J Clin Microbiol*. 2011 Aug;49(8):3047-3049.
- [48] Morrison AS, Lockhart SR, Bromley JG, Kim JY, Burd EM. An environmental *Sporothrix* as a cause of corneal ulcer. *Med Mycol Case Rep* 2013 Apr 10; 2:88-90.
- [49] Rodrigues AM, Cruz Choappa R, Fernandes GF, de Hoog GS, de Camargo ZP. *Sporothrix chilensis* sp. nov.(Ascomycota: Ophiostomatales), a soil-borne agent of human sporotrichosis with mild-pathogenic potential to mammals. *Fungal Biol*. 2016 Feb;120(2):246-264.
- [50] Quintal D. Sporotrichosis infection on mines of the Witwatersrand. *J Cutan Med Surg*. 2000 Jan;4(1):51-54.
- [51] Govender NP, Maphanga TG, Zulu TG, Patel J, Walaza S, Jacobs C, et al. An Outbreak of Lymphocutaneous Sporotrichosis among Mine-Workers in South Africa. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;25(9).
- [52] Coles FB, Schuchat A, Hibbs JR, Kondracki SF, Salkin IF, Dixon DM, et al. A multistate outbreak of sporotrichosis associated with sphagnum moss. *Am J Epidemiol*. 1992 Aug 15;136(4):475-487.
- [53] Dooley DP, Bostic PS, Beckius ML. Spook house sporotrichosis. A point-source outbreak of sporotrichosis associated with hay bale props in a Halloween haunted-house. *Arch Intern Med*. 1997 Sep 8;157(16):1885-1887.
- [54] Song Y, Li SS, Zhong SX, Liu YY, Yao L, Huo SS. Report of 457 sporotrichosis cases from Jilin province, northeast China, a serious endemic region. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013 Mar;27(3):313-318.
- [55] Fukushiro R. Epidemiology and ecology of sporotrichosis in Japan. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A*. 1984(257):228-233.
- [56] Soto MCR. Sporotrichosis: The Story of an Endemic Region in Peru over 28 Years (1985 to 2012). *PLoS One*. 2015 Jun;10(6).
- [57] Barros MB, Schubach TP, Coll JO, Gremiao ID, Wanke B, Schubach A. Sporotrichosis: development and challenges of an epidemic. *Rev Panam Salud Publica*. 2010 Jun;27(6):455-460.
- [58] Secretaria de Estado de Saúde do 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. *Diário Oficial do Estado do Rio de Janeiro*.
- [59] Ministério da Saúde. Portaria nº 1.271, de 6 de junho de 2014. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências.
- [60] Pereira SA, Gremião IDF, Menezes RC. Sporotrichosis in Animals: Zoonotic Transmission. In: Carlos IZ, ed. *Sporotrichosis: New Developments and Future Prospects*: Springer International Publishing 2015:83-102.
- [61] Schubach TM, de Oliveira Schubach A, dos Reis RS, Cuzzi-Maya T, Blanco TC, Monteiro DF, et al. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Mycopathologia*. 2002;153(2):83-86.

- [62] Madrid IM, Mattei AS, Fernandes CG, Nobre Mde O, Meireles MC. Epidemiological findings and laboratory evaluation of sporotrichosis: a description of 103 cases in cats and dogs in southern Brazil. *Mycopathologia*. 2012 Apr;173(4):265-273.
- [63] Singer JI, Muncie JE. Sporotrichosis; etiologic considerations and report of additional cases from New York. *N Y State J Med*. 1952 Sep 1;52(17:1):2147-2153.
- [64] Read SI, Sperling LC. Feline sporotrichosis. Transmission to man. *Arch Dermatol*. 1982 Jun;118(6):429-431.
- [65] Reed KD, Moore FM, Geiger GE, Stemper ME. Zoonotic transmission of sporotrichosis: case report and review. *Clin Infect Dis*. 1993 Mar;16(3):384-387.
- [66] Rees RK, Swartzberg JE. Feline-transmitted sporotrichosis: A case study from California. *Dermatol Online J*. 2011;17(6):2.
- [67] Tang MM, Tang JJ, Gill P, Chang CC, Baba R. Cutaneous sporotrichosis: a six-year review of 19 cases in a tertiary referral center in Malaysia. *Int J Dermatol*. 2012 Jun;51(6):702-708.
- [68] Zamri-Saad M, Salmiyah TS, Jasni S, Cheng BY, Basri K. Feline sporotrichosis: an increasingly important zoonotic disease in Malaysia. *Vet Rec*. 1990 Nov 10;127(19):480.
- [69] Bove-Sevilha P, Mayorga-Rodríguez J, Hernández-Hernández O. Esporotricosis transmitida por gato doméstico. Reporte de un caso. *Med Cutan Iber Lat Am*. 2008;36(1):33-35.
- [70] Yegneswaran PP, Sripathi H, Bairy I, Lonikar V, Rao R, Prabhu S. Zoonotic sporotrichosis of lymphocutaneous type in a man acquired from a domesticated feline source: report of a first case in southern Karnataka, India. *Int J Dermatol*. 2009 Nov;48(11):1198-1200.
- [71] Fernández N, Iachini R, Farias L, Pozzi N, Tiraboschi I. Esporotricosis, una zoonosis em alerta. *Infocus* 2015 5-7 Nov; Córdoba, Argentina: Círculo médico de Córdoba; 2015. p. 11.
- [72] Freitas DF, Santos SS, Almeida-Paes R, de Oliveira MM, do Valle AC, Gutierrez-Galhardo MC, et al. Increase in virulence of *Sporothrix brasiliensis* over five years in a patient with chronic disseminated sporotrichosis. *Virulence*. 2015;6(2):112-120.
- [73] Nogueira RHG, Guedes RMC, Cassali G, Gheller VA, Moreira YK. Relato de esporotricose felina (*Sporothrix schenckii*) com transmissão para o homem: aspectos clínicos, microbiológicos e anatomopatológicos. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 1995; 47:43-51.
- [74] Conti Diaz IA. Epidemiology of sporotrichosis in Latin America. *Mycopathologia*. 1989 Nov;108(2):113-116.
- [75] Alves SH, Boettcher CS, Oliveira DC, Tronco-Alves GR, Sgaria MA, Thadeu P, et al. *Sporothrix schenckii* associated with armadillo hunting in Southern Brazil: epidemiological and antifungal susceptibility profiles. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010 Sep-Oct;43(5):523-525.
- [76] Schubach TMP, Schubach A. [Sporotrichosis of cat and dog - review]. *Clin Vet*. 2000; 29:21-24.
- [77] Dunstan RW, Langham RF, Reimann KA, Wakenell PS. Feline sporotrichosis: a report of five cases with transmission to humans. *J Am Acad Dermatol*. 1986 Jul;15(1):37-45.

- [78] Davies C, Troy GC. Deep mycotic infections in cats. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1996 Sep-Oct;32(5):380-391.
- [79] Pereira SA, Passos SR, Silva JN, Gremiao ID, Figueiredo FB, Teixeira JL, et al. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. *Vet Rec.* 2010 Mar 6;166(10):290-294.
- [80] Miranda LH, Conceicao-Silva F, Quintella LP, Kuraiem BP, Pereira SA, Schubach TM. Feline sporotrichosis: histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2013 Jul;36(4):425-432.
- [81] Boechat JS. Caracterização fenotípica e molecular de isolados clínicos de *Sporothrix* spp. provenientes de gatos do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado] - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas; 2015.
- [82] Gremião ID, Menezes RC, Schubach TM, Figueiredo AB, Cavalcanti MC, Pereira SA. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. *Med Mycol.* 2015 Jan;53(1):15-21.
- [83] Schubach TM, Schubach Ade O, Cuzzi-Maya T, Okamoto T, Reis RS, Monteiro PC, et al. Pathology of sporotrichosis in 10 cats in Rio de Janeiro. *Vet Rec.* 2003 Feb 8;152(6):172-175.
- [84] Miranda LH, Santiago M de A, Schubach TM, Morgado FN, Pereira SA, Oliveira Rde V, et al. Severe feline sporotrichosis associated with an increased population of CD8low cells and a decrease in CD4+ cells. *Med Mycol.* 2016 Jan 1;54(1):29-39.
- [85] Campbell I, Pacheco T. Esporotricose. In: Campbell I, Marques S, Ruiz L, Framil V, eds. *Compêndio de Micologia Médica.* 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2010:339-351.
- [86] Pereira SA, Menezes RC, Gremiao ID, Silva JN, Honse Cde O, Figueiredo FB, et al. Sensitivity of cytopathological examination in the diagnosis of feline sporotrichosis. *J Feline Med Surg.* 2011 Apr;13(4):220-223.
- [87] Silva JN, Passos SRL, Menezes RC, Gremião IDF, Schubach TMP, Oliveira JC, et al. Diagnostic accuracy assessment of cytopathological examination of feline sporotrichosis. *Med Mycol.* 2015 Jun 19;53(8):880-884.
- [88] Miranda LH, Quintella LP, Menezes RC, dos Santos IB, Oliveira RV, Figueiredo FB, et al. Evaluation of immunohistochemistry for the diagnosis of sporotrichosis in dogs. *Vet J.* 2011 Dec;190(3):408-411.
- [89] Miranda LHM. Avaliação da resposta inflamatória *in vivo* e *in vitro* na esporotricose felina em diferentes apresentações clínicas. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado] - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas;2013.
- [90] Silva JN. Avaliação da sensibilidade de métodos diagnósticos e da carga fúngica durante o tratamento com itraconazol na esporotricose felina. Porto Alegre. Tese [Doutorado] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Ciências Veterinárias; 2016.
- [91] Fernandes GF, Lopes-Bezerra LM, Bernardes-Engemann AR, Schubach TM, Dias MA, Pereira SA, et al. Serodiagnosis of sporotrichosis infection in cats by enzyme-linked immunosorbent assay using a specific antigen, SsCBF, and crude exoantigens. *Vet Microbiol.* 2011 Jan 27;147(3-4):445-449.

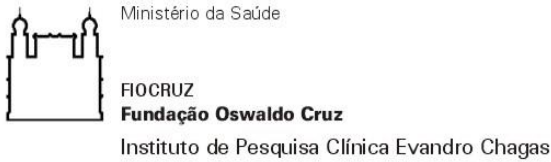
- [92] Rodrigues AM, de Hoog GS, de Camargo ZP. Molecular Diagnosis of Pathogenic *Sporothrix* Species. PLoS Negl Trop Dis. 2015 Dec;9(12):e0004190.
- [93] Brasil. Ministério da Saúde. Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na Fiocruz: Guia Prático. Comissão Técnica de Biossegurança da Fiocruz. Rio de Janeiro, 2005.
- [94] Brasil. Ministério da Saúde. Classificação de risco dos agentes biológicos/Ministerio da Saúde, Secretaria de ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. 2.ed. Brasília 2010.
- [95] Silva DT, Menezes RC, Gremiao IDF, Shubach TMP, Boechat JS, S.A. P. Esporotricose zoonótica: procedimentos de biossegurança. Acta Sci Vet. 2012;40(4):10.
- [96] Madrid IM, Mattei AS, Santin R, dos Reis Gomes A, Cleff MB, Meireles MC. Inhibitory effect of sodium hypochlorite and chlorhexidine digluconate in clinical isolates of *Sporothrix schenckii*. Mycoses. 2012 May;55(3):281-285.
- [97] Davis BA. Sporotrichosis. Dermatol Clin. 1996 Jan;14(1):69-76.
- [98] Reis EG, Gremiao ID, Kitada AA, Rocha RF, Castro VS, Barros MB, et al. Potassium iodide capsule treatment of feline sporotrichosis. J Feline Med Surg. 2012 Jun;14(6):399-404.
- [99] Chaves AR, de Campos MP, Barros MB, do Carmo CN, Gremiao ID, Pereira SA, et al. Treatment abandonment in feline sporotrichosis - study of 147 cases. Zoonoses Public Health. 2013 Mar;60(2):149-153.
- [100] Batista-Duharte A, Pereira SA, Freitas DFS, Fuentes DP, Gutierrez-Galhardo MC, Carlos IZ. Therapeutic and Prophylactic Tools for Sporotrichosis: Current Strategies and Future Tendencies. In: Carlos IZ, ed. *Sporotrichosis: New Developments and Future Prospects*. 1 ed: Springer 2015:147-177.
- [101] de Souza CP, Lucas R, Ramadinha RH, Pires TB. Cryosurgery in association with itraconazole for the treatment of feline sporotrichosis. J Feline Med Surg. 2016 Feb;18(2):137-143.
- [102] Costa RO, Macedo PM, Carvalhal A, Bernardes-Engemann AR. Use of potassium iodide in Dermatology: updates on an old drug. An Bras Dermatol. 2013 Jun;88(3):396-302.
- [103] Sterling JB, Heymann WR. Potassium iodide in dermatology: a 19th century drug for the 21st century-uses, pharmacology, adverse effects, and contraindications. J Am Acad Dermatol. 2000 Oct;43(4):691-697.
- [104] Torres-Mendoza BM, Vazquez-Valls E, Gonzalez-Mendoza A. Effect of potassium iodide on the immune response in the sporotrichosis. Rev Iberoam Micol. 1997 Sep;14(3):98-100.
- [105] Gougerot H. New insight gained in general pathology and practical medicine by the study of sporotrichoses. Ann N Y Acad Sci. 1950 Sep;50(10):1348-1356.
- [106] Honma K, Saga K, Onodera H, Takahashi M. Potassium iodide inhibits neutrophil chemotaxis. Acta Derm Venereol. 1990;70(3):247-249.
- [107] Dunstan RW, Reimann KA, Langham RF. Feline sporotrichosis. J Am Vet Med Assoc. 1986 Oct 15;189(8):880-883.

- [108] Gonzalez Cabo JF, de las Heras Guillamon M, Latre Cequiél MV, Garcia de Jalon Ciercoles JA. Feline sporotrichosis: a case report. *Mycopathologia*. 1989 Dec;108(3):149-154.
- [109] Mackay BM, Menrath VH, Ridley MF, Kellym WR. Sporotrichosis in a cat. *Aust Vet Practit*. 1986; 16:3-5.
- [110] Mahajan VK. Sporotrichosis: an overview and therapeutic options. *Dermatol Res Pract*. 2014;2014.
- [111] Yamada K, Zaitz C, Framil VM, Muramatu LH. Cutaneous sporotrichosis treatment with potassium iodide: a 24 year experience in São Paulo State, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2011 Mar-Apr;53(2):89-93.
- [112] Schubach TMP, Menezes RC, Wanke B. Sporotrichosis. In: Greene C, ed. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4 ed. St. Louis: Elsevier Saunders 2012:645-650.
- [113] Burke M, Grauer G, Macy D. Successful treatment of cutaneolymphatic sporotrichosis in cat with ketoconazole and sodium iodine. *J Am Anim Hosp Assoc*. 1982; 19:542-547.
- [114] Crothers SL, White SD, Ihrke PJ, Affolter VK. Sporotrichosis: a retrospective evaluation of 23 cases seen in northern California (1987-2007). *Vet Dermatol*. 2009 Aug;20(4):249-259.
- [115] Nusbaum BP, Gulbas N, Horwitz SN. Sporotrichosis acquired from a cat. *J Am Acad Dermatol*. 1983 Mar;8(3):386-391.
- [116] Peaston A. Sporotrichosis. *J Vet Intern Med*. 1993 Jan-Feb;7(1):44-45.
- [117] Carvalho BW. Avaliação da resposta terapêutica ao iodeto de sódio em cápsulas na esporotricose felina. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado] - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas; 2016.
- [118] Nobre MO, Nascente PS, Meireles MC, Ferreiro L. Antifungal drugs for small and large animals. *Cienc Rural*. 2002;32(1):175-184.
- [119] Arnold TM, Dotson E, Sarosi GA, Hage CA. Traditional and emerging antifungal therapies. *Proc Am Thorac Soc*. 2010 May;7(3):222-228.
- [120] Bellmann R. Clinical pharmacokinetics of systemically administered antimycotics. *Curr Clin Pharmacol*. 2007 Jan;2(1):37-58.
- [121] Carrillo-Munoz AJ, Giusiano G, Ezkurra PA, Quindos G. Antifungal agents: mode of action in yeast cells. *Rev Esp Quimioter*. 2006 Jun;19(2):130-139.
- [122] Maertens JA. History of the development of azole derivatives. *Clin Microbiol Infect*. 2004 Mar;10 Suppl 1:1-10.
- [123] Dodds Ashley ES, Lewis R, Lewis JS, Martin C, Andes D. Pharmacology of Systemic Antifungal Agents. *Clin Infect Dis*. 2006;46(Suppl 1):28-39.
- [124] Willard MD, Nachreiner RF, Howard VC, Fooshee SK. Effect of long-term administration of ketoconazole in cats. *Am J Vet Res*. 1986 December;47(12):2510-2513.
- [125] Heit MC, Riviere J. Antifungal and Antiviral Drugs. In: Adams R, ed. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 7th ed. Ames: Iowa State University Press 1995:855-885.
- [126] Plumb DC. *Manual de Farmacología Veterinaria*. 5 ed. Buenos Aires: Inter-Médica 2006.

- [127] Lestner J, Hope WW. Itraconazole: an update on pharmacology and clinical use for treatment of invasive and allergic fungal infections. *Drug Metab Toxicol.* 2013;9(7):911-916.
- [128] Mawby DI, Whittemore JC, Genger S, Papich MG. Bioequivalence of orally administered generic, compounded, and innovator-formulated itraconazole in healthy dogs. *J Vet Intern Med.* 2014 Jan-Feb;28(1):72-77.
- [129] Saltão R, Veiga F. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. *Braz J Pharm Sci.* 2001; 37(1): 17.
- [130] Itraconazol: cápsulas [Bula de remédio]. Paraná: Prati-Donaduzzi 2012.
- [131] Madrid IM, Mattei A, Martins A, Nobre M, Meireles M. Feline sporotrichosis in the southern region of Rio Grande do Sul, Brazil: clinical, zoonotic and therapeutic aspects. *Zoonoses Public Health.* 2010 Mar;57(2):151-154.
- [132] Rossi CN, Odaguiri J, Larsson CE. Retrospective assessment of the treatment of sporotrichosis in cats and dogs using itraconazole. *Acta Sci Vet.* 2013;41(1112).
- [133] Gremião I, Schubach T, Pereira S, Rodrigues A, Honse C, Barros M. Treatment of refractory feline sporotrichosis with a combination of intralesional amphotericin B and oral itraconazole. *Aust Vet J.* 2011 Sep;89(9):346-351.
- [134] Fillipin FB, Souza LC. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. *Rev Bras Cienc Farm.* 2006 abril-junho;42(2):167-194.
- [135] Rodrigues AM. Anfotericina B subcutânea associada ao itraconazol no tratamento da esporotricose em gatos domésticos. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado] - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas; 2009.
- [136] Pereira COA. Tratamento da esporotricose felina com a associação de anfotericina B lipossomal e itraconazol oral. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado] - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas; 2015.
- [137] Francesconi G, Valle AC, Passos S, Reis R, Galhardo MC. Terbinafine (250 mg/day): an effective and safe treatment of cutaneous sporotrichosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2009 Nov;23(11):1273-1276.
- [138] Meinerz ARM. Avaliação da atividade *in vivo* e *in vitro* da terbinafina e itraconazol frente ao *Sporothrix schenckii*. Porto Alegre. Tese [Doutorado] - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Ciências Veterinárias; 2007.
- [139] Pereira SA. Esporotricose felina: estudo terapêutico no Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado]- Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas; 2009.
- [140] Machado ACS. Susceptibilidade à antifúngicos de isolados de *Sporothrix brasiliensis* provenientes de gatos do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado] - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas; 2015.
- [141] Vasquez-del-Mercado E, Arenas R, Padilla-Desgarenes C. Sporotrichosis. *Clin Dermatol.* 2012 Jul-Aug;30(4):437-443.

- [142] Hiruma M, Kawada A, Noguchi H, Ishibashi A, Conti Diaz IA. Hyperthermic treatment of sporotrichosis: experimental use of infrared and far infrared rays. *Mycoses*. 1992 Nov-Dec;35(11-12):293-299.
- [143] Honse CO, Rodrigues AM, Gremiao ID, Pereira SA, Schubach TM. Use of local hyperthermia to treat sporotrichosis in a cat. *Vet Rec*. 2010 Feb 13;166(7):208-209.
- [144] Lucas R. Semiologia da Pele. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico*. São Paulo: Roca 2004:642-676.
- [145] Pereira SA, Gremiao ID, Kitada AA, Boechat JS, Viana PG, Schubach TM. The epidemiological scenario of feline sporotrichosis in Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014 Jun;47(3):392-393.
- [146] Reis EG, Kitada AAB, Carvalho BW, Ornellas RO, Petry LC, Gremião IDF. Treatment of refractory feline sporotrichosis with potassium iodide capsule. XVIII International Congress for Tropical Medicine and malaria 2012 23-27 sep; Rio de Janeiro, Brazil; 2012.
- [147] Barros RS, Menezes RC, Pereira SA, Figueiredo FB, Oliveira RVC, Nicolau JL, et al. Feline Sporotrichosis: Coinfection with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus and Feline Leukemia Virus in Cats From an Endemic Area in Brazil. *Acta Sci Vet*. 2015;43(1316).
- [148] Reis EG, Schubach TM, Pereira SA, Silva JN, Carvalho BW, Quintana MS, et al. Association of itraconazole and potassium iodide in the treatment of feline sporotrichosis: a prospective study. *Med Mycol*. 2016 May 20. 2016 Oct;54(7):684-90.
- [149] Greene CE, Caplin J. Antimicrobial Drug Formulary. In: Greene CE, ed. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4 rd ed. St. Louis: Saunders Elsevier 2012:1268-1270.
- [150] National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Table for grading severity of adult adverse experiences. *Adult AIDS Clinical Trial Group (AACTG)* 1992.
- [151] Jain NC. *Essentials of Veterinary Hematology*: Wiley-Blackwell 1993.
- [152] Center SA. Interpretation of liver enzymes. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2007 Mar;37(2):297-333, vii.
- [153] Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Blood analyte reference values in small and some laboratory animal. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6 ed. San Diego: Elsevier: Academic Press 2008:889-895.

ANEXOS



ANEXO “A” - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

INSTITUIÇÃO: INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS / IPEC – FIOCRUZ

Coordenadora da Pesquisa: Érica Guerino dos Reis

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

Nome do Projeto: Ensaio clínico comparativo entre itraconazol e associação de itraconazol e iodeto de potássio no tratamento da esporotricose felina.

Nome do paciente: _____ **Prontuário:** _____

Nome do responsável: _____

A esporotricose é uma micose subcutânea causada por fungos do complexo *Sporothrix schenckii* que acomete homens e animais, incluindo cães e gatos.

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

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

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

Você está sendo convidado(a) a participar de uma investigação clínica que será realizada no IPEC – FIOCRUZ, com o seguinte objetivo:

- Ensaio clínico comparativo entre itraconazol e associação de itraconazol e iodeto de potássio no tratamento da esporotricose felina.

O tratamento com itraconazol e iodeto de potássio é experimental e será avaliado ao longo do projeto quanto à efetividade e aceitabilidade.

O itraconazol é o fármaco mais utilizado atualmente no tratamento da esporotricose felina, sendo considerado a droga de escolha com aproximadamente 38% de cura clínica. A participação de seu gato neste estudo é voluntária e você poderá recusar-se a permitir a participação dele no estudo ou retirá-lo a qualquer instante, bem como está garantido o atendimento de rotina no LAPCLIN-DERMZOO. O médico veterinário também poderá interromper a participação do seu gato a qualquer momento, se julgar necessário. Para que seu gato participe desse projeto, você deverá autorizar a realização de exames e posterior acompanhamento da doença. Serão realizadas fotografias em todas as consultas para o acompanhamento do tratamento. Os exames, procedimentos e medicações contra o fungo serão oferecidos de forma gratuita pela Instituição.

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

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

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

Procedimentos, exames e testes que poderão ser utilizados:

Antes do início do tratamento, será realizado exame clínico geral e exame dermatológico.

Seu animal poderá ser sedado em todas as consultas para coleta de sangue e possível coleta de material biológico para acompanhamento do tratamento.

Após o início do tratamento, o animal deverá ser trazido ao LAPCLIN-DERMZOO a cada 30 dias durante o tempo de estudo, estimado em 7 meses. Após a cura, o gato deverá ser trazido em três meses para reavaliação clínica e laboratorial.

Todos os animais incluídos no estudo receberão gratuitamente 35 cápsulas de itraconazol ou itraconazol e iodeto de potássio, mensalmente, de acordo com a randomização. As cápsulas deverão ser administradas pelos proprietários conforme orientação do médico veterinário. Os animais terão direito a acompanhamento no LAPCLIN-DERMZOO após o término do estudo, caso necessário.

Inconvenientes e riscos principais conhecidos atualmente:

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

Na coleta de sangue poderá ocorrer, em alguns casos, a formação de uma área arroxeadada no local, que desaparecerá em alguns dias.

No caso da biopsia, poderão ocorrer inflamação e infecção por bactérias. Caso isso ocorra, serão receitados os medicamentos apropriados. A medicação aplicada diretamente na lesão pode, em alguns casos, ocasionar efeitos indesejáveis como: irritação local ou abscesso. Caso isso ocorra com seu animal, você deve entrar em contato com a equipe de médicos veterinários do LAPCLIN-DERMZOO.

A medicação via oral para combater o fungo, pode, em alguns casos, ocasionar efeitos indesejáveis como: falta de apetite, vômito, diarreia e apatia (“tristeza”).

Benefícios esperados:

Embora se espere, não podemos afirmar que, ao final do tratamento, o seu gato esteja curado da esporotricose. Também é esperado que ao final do estudo exista uma grande quantidade de informações capazes de contribuir para o tratamento de outros animais, colaborando para o controle da doença.

Declaro que li e entendi todas informações relacionadas ao estudo em questão e que todas as minhas perguntas foram adequadamente respondidas pela equipe médica veterinária, a qual estará a disposição sempre que eu tiver dúvidas a respeito dessa pesquisa.

Recebi uma cópia deste termo e pelo presente consinto voluntariamente com a participação do meu gato neste estudo.

Nome do responsável pelo gato _____ Data _____

Nome do médico veterinário _____ Data _____

Nome da testemunha _____ Data _____

ANEXO “B” - Tabelas de graus de toxicidade clínica, adaptadas para felinos domésticos da “AIDS Table for Grading Severity of Adult Adverse Experiences, 1992” (AACTG, 1992)¹⁵⁰.

Toxicidade Clínica	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
REGRA GERAL	Leve: sinal ou sintoma passageiro ou leve; sem limitação de atividade; sem necessitar cuidado médico ou tratamento.	Moderado: limitação de atividade leve a moderada; podendo necessitar cuidado médico ou tratamento	Grave: limitação de atividade importante; necessidade de cuidado médico ou tratamento	Risco de vida potencial: limitação extrema de atividade; grande necessidade de cuidado médico e tratamento

Valores de referência	
Hematócrito (%)	24-45*
Leucometria global (quant./uL)	5.000-19.500*

*Jain¹⁵¹

ANEXO “C” - Tabela de graus de toxicidade hepática para felinos ¹⁵².

Toxicidade Laboratorial	Discreto	Moderado	Marcante
Bioquímica			
AST(U/L)	<5x o valor de referência mais alto	De 5 a 10x o valor de referência mais alto	> 10x o valor de referência mais alto
ALT(U/L)			
FA(U/L)			

Valores de referência	
AST(U/L)	26-43*
ALT(U/L)	6-83*
Creatinina(mg/dL)	0.8-1.8*
Ureia(mg/dL)	20-30

*Kaneko ¹⁵³

APÊNDICES

APÊNDICE “A” – Ficha de Notificação/Investigação (Epizootia)

República Federativa do Brasil **SINAN** SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO Nº
 Ministério da Saúde FICHA DE NOTIFICAÇÃO/INVESTIGAÇÃO **EPIZOOTIA**

Definição do Caso: Animal ou grupo de animais encontrados mortos sem causa definida e/ou doentes com sintomatologia neurológica seguida ou não de morte. Uma nova epizootia é considerada quando da não notificação de novos casos no intervalo de 30 dias.

Dados Gerais	1 Tipo de Notificação 2 - Individual	
	2 Agravado/doença EPIZOOTIA	3 Data da Notificação
	5 UF 6 Município de Notificação	Código (IBGE)
7 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)	Código	8 Data do início da epizootia

Dados de Ocorrência	8 Suspeita diagnóstica 1ª suspeita diagnóstica <input type="checkbox"/> 2ª suspeita diagnóstica <input type="checkbox"/> 3ª suspeita diagnóstica <input type="checkbox"/>		
	1 - Raiva 3 - Febre do Vírus do Nilo Ocidental 5 - Febre Amarela 7 - Outro. Especificar: _____ 2 - Encefalite Equina 4 - Encefalite Espongiforme Bovina 6 - Influenza Aviária		
	9 Animais acometidos (no momento da notificação)		
	1 - Ave 3 - Canino 5 - Felino 7 - Primata não-humano 9 - Outro. Especificar <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Doentes _____ 2 - Bovídeo 4 - Equídeo 6 - Morcego 8 - Canídeo selvagem Mortos _____		
	10 UF 11 Município de Ocorrência	Código (IBGE)	12 Distrito
	13 Bairro	14 Logradouro (rua, avenida,...)	Código
15 Número	16 Complemento (apto., casa, ...)	17 Geo campo 1	
18 Geo campo 2	19 Ponto de Referência	20 CEP	
21 (DDD) Telefone	22 Localidade 1 - Domicílio 2 - Perímetro urbano 3 - Parque, praça ou zoológico 4 - Área rural 5 - Área silvestre 6 - Reserva biológica 7 - Outro <input type="checkbox"/>		

Dados Complementares do Caso

Investigação	23 Data da Investigação	24 Coletado material para exame <input type="checkbox"/> 25 Material coletado (especificar)
	26 Resultado do exame 1 - Positivo/Reagente 2 - Negativo/Não reagente 3 - Inconclusivo 4 - Ignorado <input type="checkbox"/>	

Número de Animais Encontrados	27 Número de animais doentes e/ou mortos e respectiva classificação					
	Animal	Distribuição			Classificação	
		Doente	Morto	Total	Gênero	Espécie
	Ave					
	Bovídeo					
	Canino					
	Equídeo					
	Felino					
	Morcego					
	Primata não-humano					
Canídeo selvagem						
Outro _____						

Conclusão	28 Diagnóstico final 29 Data do encerramento			
	1-Raiva 3-Febre do Vírus do Nilo Ocidental 5-Febre Amarela 7-Outro. Especificar: _____ 2-Encefalite Equina 4 - Encefalite Espongiforme Bovina 6-Influenza Aviária			

Observações Adicionais

Investigador	Município/Unidade de Saúde		Cód. da Unid. de Saúde
	Nome	Função	Assinatura
	Epizootias		Sinan NET

APÊNDICE “B” – Licença CEUA/Fiocruz

Vice-presidência de Pesquisa e
Laboratórios de Referência

Comissão de Ética
no Uso de Animais

LICENÇA

LW-37/12

Certificamos que o protocolo (P-84/11.2), intitulado “ENSAIO CLÍNICO COMPARATIVO ENTRE ITRACONAZOL E ASSOCIAÇÃO DE ITRACONAZOL E IODETO DE POTÁSSIO NO TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE”, sob a responsabilidade de **TANIA MARIA VALENTE PACHECO**, atende ao disposto na Lei 11794/08, que dispõe sobre o uso científico no uso de animais, inclusive, aos princípios da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). A referida licença não exime a observância das Leis e demais exigências legais na vasta legislação nacional.

Esta licença tem validade até 03/05/2016 e inclui o uso total de:

Felis sylvestris catus

- 90 machos, peso: 3 kilos.
- 50 fêmeas, peso: 3 kilos.

Rio de Janeiro, 21 de maio de 2012.



Octavio Augusto França Presgrave
Coordenador da CEUA

Octavio A. F. Presgrave
Coordenador
CEUA/FIOCRUZ
SIAPE 04626550

APÊNDICE “C” – Termo aditivo: CEUA/Fiocruz



Ministério da Saúde
 FIOCRUZ
 Fundação Oswaldo Cruz
 Vice-presidência de Pesquisa e
 Laboratórios de Referência



**Comissão de Ética
 no Uso de Animais**

TERMO ADITIVO AO CERTIFICADO DA LICENÇA Nº LW-37/12 (P-84/11.2)

A Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/FIOCRUZ, em atenção à solicitação da Dra. Erica Guerino dos Reis autoriza o presente aditivo, conforme solicitação da proponente, via e-mail, de 01 de agosto de 2015.

1. Inclusão de 40 *Felis sylvestris catus*.

Este aditivo tem validade até 03 de maio de 2016.

Rio de Janeiro, 10 de agosto de 2015.

Octavio Augusto França Presgrave
 Coordenador da CEUA/FIOCRUZ

Octavio A. F. Presgrave
 Coordenador
 CEUA/FIOCRUZ
 SIAPE 04626550

APÊNDICE “D” – Resíduos de Schoenfeld

Variáveis	Correlação de Spearman (rho)	Chi-square	p-value
Grupo Associação	-0,004	0,002	0,963
Sinais respiratórios_NÃO	-0,186	3,533	0,06
Linfangite_NÃO	-0,153	2,957	0,086
Lesão Mucosa_NÃO	-0,178	3,016	0,082
Distribuição das Lesões_L2	-0,116	1,683	0,195
Distribuição das Lesões_L0ouL1	0,025	0,068	0,794
Castração_SIM	-0,141	2,401	0,121
Castração_Desconhecido	-0,214	0	1
Global	NA	17,585	0,025