

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas



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

ANNA CAROLINA PROCÓPIO DE AZEVEDO

**AVALIAÇÃO DA CASUÍSTICA DE ESPOROTRICOSE HUMANA COM
MANIFESTAÇÕES CUTÂNEAS DE REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE DO
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS, 2005 A 2018**

Rio de Janeiro
2020

ANNA CAROLINA PROCÓPIO DE AZEVEDO

**AVALIAÇÃO DA CASUÍSTICA DE ESPOROTRICOSE HUMANA COM
MANIFESTAÇÕES CUTÂNEAS DE REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE DO
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS, 2005 A 2018**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador:

Dr. Dayvison Francis Saraiva Freitas

Rio de Janeiro
2020

Procópio de Azevedo, Anna Carolina.

AVALIAÇÃO DA CASUÍSTICA DE ESPOROTRICOSE HUMANA COM MANIFESTAÇÕES CUTÂNEAS DE REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE DO INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS, 2005 A 2018 / Anna Carolina Procópio de Azevedo. - Rio de Janeiro, 2020.

103 f.; il.

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

Orientador: Dayvison Francis Saraiva Freitas.

Bibliografia: f. 72-84

1. Esporotricose. 2. *Sporothrix brasiliensis*. 3. Eritema Multiforme. 4. Eritema Nodoso. 5. *Síndrome de Sweet*. I. Título.

ANNA CAROLINA PROCÓPIO DE AZEVEDO

**AVALIAÇÃO DA CASUÍSTICA DE ESPOROTRICOSE HUMANA COM
MANIFESTAÇÕES CUTÂNEAS DE REAÇÃO DE HIPERSENSIBILIDADE DO
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS, 2005 A 2018**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador:

Dr. Dayvison Francis Saraiva Freitas

Aprovada em: 19/02/2020

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Maria Clara Gutierrez Galhardo (Presidente)
Doutora em Medicina (Dermatologia)
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas – Fundação Oswaldo Cruz

Prof. Dr. Ziadir Francisco Coutinho
Doutor em Saúde Pública
Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca – Fundação Oswaldo Cruz

Prof.^a Dra. Andréa Reis Bernardes de Souza Engemann
Doutora em Ciências
Laboratório de Micologia/Hupe - Universidade do Estado do Rio de Janeiro

*Aos meus pais, Elisabete e Paulo Maurício.
E à minha irmã, Ana Paula. Obrigada por
todo o amor que uma filha e irmã poderia
querer!*

AGRADECIMENTOS

À minha família, Elisabete, Paulo Maurício, Ana Paula, Marcelino e Luke. Obrigada por todo amor, carinho, apoio e dedicação. Eu amo vocês!

Ao meu namorado, Lucca Mauad, que mesmo a 434 km de distância, consegue me fazer a mulher mais feliz do mundo. Obrigada por sempre acreditar em mim e no meu potencial. Por me amar, me apoiar nos momentos de dificuldade e pela paciência ao ouvir minhas apresentações dos seminários.

Ao Dayvison Freitas, meu orientador e *crush* científico. Obrigada por me estender a mão quando eu mais precisei, pelos ensinamentos e por estar sempre presente e disposto a tirar todas as minhas dúvidas. Não poderia desejar orientador melhor!

À Maria Clara Gutierrez Galhardo e Antonio Carlos Francesconi do Valle pela colaboração e acompanhamento do projeto desde o início.

À Andréa Engemann (Mamis), pelas avaliações dos seminários e pelas ótimas dicas para a melhoria deste trabalho.

À Rosely Zancopé, Rodrigo de Almeida Paes e Luciana Trilles, pelo espaço, cepas e equipamentos disponibilizados durante a dissertação.

Ao Laboratório de Toxinologia (IOC-Fiocruz), por disponibilizar o equipamento NanoVue, para a realização das quantificações dos DNAs do estudo.

À Ingrid Ludmilla, minha grande amiga e eterna “idosa” que a Fiocruz me deu. Obrigada pela amizade, companheirismo dentro e fora do laboratório e por sempre estar disposta a me ajudar, ouvir os meus problemas e me aconselhar.

Ao Fernando Almeida, que aos poucos se tornou um grande amigo no laboratório. Obrigada por estar sempre disposto a tirar minhas dúvidas, ajudar em algum experimento, aconselhar e ouvir os meus áudios de quase dez minutos.

À Vanessa Brito, minha “orientadora” desde a iniciação científica. Sempre salvando a minha pele quando algum experimento ou algo dava errado no laboratório e sempre com boa vontade para tirar minhas dúvidas constantes. Muito obrigada!

Ao Caio Thomaz, amigo e parceiro de videogame. Nos conhecemos no dia da entrevista do mestrado e desde então nossa amizade só cresceu. Obrigada por tornar as disciplinas mais divertidas e animadas.

Aos grandes amigos do laboratório, Mauro Muniz, Cláudia Pizzini, Marcos de Abreu, Camila Jantoro, Larissa Miranda, Luã Cardoso, Beatriz Motta, Lucas Machado, Rosângela Alves, Gabriela Tomki e Letícia Marmello. Muito obrigada pelos cafés e por tornarem os dias mais divertidos.

Ao pessoal do Diagnóstico Micológico, Maria Helena, Rowena Coelho e Fabio Britto. E não poderia esquecer das alunas e amigas do laboratório, Gabriela Machado, Ana Beatriz Barreto, Ana Beatriz Ramalho, Juliana Silveira, Jéssica Bonsanto e Iara Bastos.

Ao Júlio Lima, pelas análises estatísticas.

À Priscila Sá, da Coordenação de Pós-Graduação, por toda ajuda e boa vontade durante o todo o curso.

Ao Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, pela oportunidade fornecida aos alunos do curso de pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas.

À Fundação Oswaldo Cruz, pelo apoio concedido em forma de bolsa de estudos para a realização desse projeto.

À Capes, CNPq e Faperj, pelo apoio financeiro concedido.

Aos pacientes do estudo que contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Ninguém vai bater mais forte do que a vida.
Não importa como você bate e sim o quanto
aguenta apanhar e continuar lutando... o
quanto pode suportar e seguir em frente. É
assim que se ganha!”*

Rocky Balboa

PROCÓPIO-AZEVEDO, Anna Carolina. **Avaliação da casuística de esporotricose humana com manifestações cutâneas de reação de hipersensibilidade do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, 2005 a 2018**, 2020. 103 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, 2020.

RESUMO

A esporotricose é uma micose subcutânea de ocorrência mundial, causada por fungos dimórficos do gênero *Sporothrix*. Por características fenotípicas e genotípicas, atualmente as principais espécies de interesse clínico são *Sporothrix schenckii*, *Sporothrix brasiliensis* e *Sporothrix globosa*. A região metropolitana do Rio de Janeiro constitui uma área hiperendêmica de esporotricose desde 1998 e o Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) é a principal unidade de referência para diagnóstico e tratamento dos casos. Diversas formas clínicas de esporotricose podem ser observadas (linfocutânea, cutânea fixa, cutânea disseminada e extracutânea/disseminada). A doença tem se caracterizado por formas clínicas pouco usuais e manifestações de hipersensibilidade, como eritema nodoso, eritema multiforme, artrite reativa e síndrome de *Sweet*. Tais manifestações foram até então reportadas somente no contexto da esporotricose de transmissão zoonótica. Por vezes, as lesões de hipersensibilidade são confundidas com lesões de esporotricose, comprometendo o adequado tratamento dos pacientes. Estudo prévio sinaliza para a ocorrência de hipersensibilidade em aproximadamente 10% dos pacientes e para um papel de *S. brasiliensis* como única espécie associada a este quadro. Ainda, há uma aparente cura clínica mais favorável e rápida nesses pacientes. Entretanto, um estudo com números institucionais não foi realizado. O objetivo deste estudo foi avaliar os casos de esporotricose humana com manifestações cutâneas de hipersensibilidade, atendidos no INI, entre 2005 e 2018, identificando os tipos de hipersensibilidade e descrevendo o perfil dos pacientes, com caracterização da(s) espécie(s) de *Sporothrix* envolvidas. Os prontuários foram revistos para confirmação dos casos e os isolados obtidos das lesões de esporotricose desses pacientes, que estavam preservados no Laboratório de Micologia, foram recuperados para identificação da espécie. Foram incluídos 325 pacientes. Desses, 156 (48%) eram moradores do município do Rio de Janeiro, principalmente da zona norte (82/156; 52,6%). Houve predomínio de pacientes do sexo feminino (262; 80,6%), fora do mercado de trabalho (134; 41,2%) e faixa etária entre a 5ª e 6ª década de vida. O contato com gato doente esteve presente em 261 (80,3%) casos. A esporotricose linfocutânea foi a mais frequente (152; 46,8%) e os membros superiores, os mais acometidos (217; 66,8%). Hipertensão arterial foi a comorbidade mais observada (57; 17,5%). Eritema nodoso foi a manifestação cutânea de hipersensibilidade mais encontrada (160; 49,2%) e com associação ao sexo feminino (razão de chance: 3,18). Itraconazol na dose de 100 mg/dia foi o fármaco mais utilizado (203/273; 74,4%), com mediana de tempo de 12,9 semanas de tratamento. Dos 325 pacientes, 285 (87,7%) curaram, com tempo mediano de tratamento semelhante ao grupo controle de pacientes sem hipersensibilidade (12,9 semanas *versus* 12 semanas). Os 61 isolados recuperados foram identificados como *S. brasiliensis*. Conclui-se que, por ora, *S. brasiliensis* é a única espécie associada às manifestações de hipersensibilidade na esporotricose e que o eritema nodoso é a hipersensibilidade com mais associação ao sexo feminino. Cerca de 10% dos pacientes com esporotricose foram acometidos nessa região. Não há diferença entre o tempo de tratamento até a cura dos pacientes com ou sem manifestações cutâneas de hipersensibilidade.

Palavras-chave: 1. Esporotricose; 2. *Sporothrix brasiliensis*; 3. Hipersensibilidade; 4. Eritema Multiforme; 5. Eritema Nodoso; 6. Síndrome de *Sweet*; 7. Itraconazol.

PROCÓPIO-AZEVEDO, Anna Carolina. **Evaluation of the human sporotrichosis case series with cutaneous manifestations of hypersensitivity reaction of the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, 2005 to 2018**, 2020. 103 s. Dissertation (Master in Clinical Research in Infectious Diseases) - Oswaldo Cruz Foundation, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, 2020.

ABSTRACT

Sporotrichosis is a subcutaneous mycosis of worldwide occurrence, caused by dimorphic fungi of the genus *Sporothrix*. Due to phenotypic and genotypic characteristics, currently the main species of clinical interest are *Sporothrix schenckii*, *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix globosa*. The metropolitan region of Rio de Janeiro has been a hyperendemic area of sporotrichosis since 1998 and the Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases (INI) is the main reference unit for diagnosis and treatment of cases. Several clinical forms of sporotrichosis can be observed (lymphocutaneous, fixed cutaneous, disseminated cutaneous and extracutaneous/disseminated). The disease has been characterized by unusual clinical forms and hypersensitivity reactions, such as erythema nodosum, erythema multiforme, reactive arthritis and Sweet's syndrome. Up to now, such reactions have been reported only in the context of zoonotic transmission sporotrichosis. Sometimes, hypersensitivity lesions are confused with sporotrichosis lesions, compromising the appropriate treatment of patients. A previous study indicates the occurrence of reactions in approximately 10% of patients and *S. brasiliensis* as the only species associated with this condition. Still, there is an apparent more favorable and faster clinical cure in these patients. However, a study with institutional numbers, has not been carried out. The objective of this study was to evaluate cases of human sporotrichosis with cutaneous manifestations of hypersensitivity reaction, attended at INI, between 2005 and 2018, identifying the types of hypersensitivity and describing the profile of the patients, with characterization of the involved *Sporothrix* species. The medical records were reviewed to confirm the cases and the isolates obtained from the sporotrichosis lesions of these patients, which were preserved in the Laboratory of Mycology, were recovered for identification of the species. There was the inclusion of 325 patients. Of these, 156 (48%) were residents in the city of Rio de Janeiro, mainly in the northern zone (82/156; 52.6%). There was a predominance of female patients (262; 80.6%), out of the job market (134; 41.2%) and age between the 5th and 6th decade of life. Contact with a sick cat was present in 261 (80.3%) cases. Lymphocutaneous sporotrichosis was more frequent (152; 46.8%) and the upper limbs were the most affected (217; 66.8%). Arterial hypertension was the most observed comorbidity (57; 17.5%). Erythema nodosum was the most common hypersensitivity cutaneous manifestation (160; 49.2%) and was associated with females (odds ratio: 3.18). Itraconazole at a dose of 100 mg/day was the most used drug (203/273; 74.4%), with a median time of 12.9 weeks of treatment. Of the 325 patients, 285 (87.7%) healed, with a median treatment time similar to the control group of patients without hypersensitivity (12.9 weeks versus 12 weeks). The 61 recovered isolates were identified as *S. brasiliensis*. In conclusion, for now, *S. brasiliensis* is the only species associated with the hypersensitivity manifestations in sporotrichosis and erythema nodosum is the hypersensitivity most associated with females, affecting close to 10% of the patients with sporotrichosis in this region. There is no difference between the treatment time to cure patients with or without hypersensitivity cutaneous manifestations in sporotrichosis.

Keywords: 1. Sporotrichosis; 2. *Sporothrix brasiliensis*; 3. Hypersensitivity; 4. Erythema Multiforme; 5. Erythema Nodosum; 6. Sweet's Syndrome; 7. Itraconazole.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Macro e micromorfologia da fase filamentosa de <i>Sporothrix</i> spp.....	18
Figura 2 - Macro e micromorfologia da fase leveduriforme de <i>Sporothrix</i> spp.....	19
Figura 3 - Formas clínicas da esporotricose.....	26
Figura 4 - Manifestações cutâneas de hipersensibilidade da esporotricose.....	27
Figura 5 - Fluxograma da busca e análise de dados obtidos.....	43
Figura 6 - Número de casos de esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade diagnosticados anualmente (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	44
Figura 7 - Distribuição por faixa etária dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	45
Figura 8 - Formas clínicas apresentadas pelos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	48
Figura 9 - Distribuição por sexo, do tipo de manifestação cutânea de hipersensibilidade nos pacientes com esporotricose (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	49
Figura 10 - Tempo de tratamento entre os tipos de manifestação cutânea de hipersensibilidade e entre pacientes com (INI/Fiocruz - 2005 a 2018) e sem (INI/Fiocruz - 2005 a 2008) tais manifestações.....	55
Figura 11 - Eletroforese dos produtos da PCR utilizando <i>primers</i> específicos Sbra-F e Sbra-R dos isolados de <i>Sporothrix</i> spp.....	56
Figura 12 - Eletroforese dos produtos da PCR utilizando <i>primers</i> específicos de Sbra-F e Sbra-R, Ssch-F e Ssch-R e Sglo-F e Sglo-R dos isolados de <i>Sporothrix</i> spp.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Município de residência dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade no estado do Rio de Janeiro (INI/Fiocruz – 2005 a 2018).....	46
Tabela 2 – Possível forma de contágio dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	47
Tabela 3 - Localização das lesões de esporotricose nos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	48
Tabela 4 - Comorbidades relatadas pelos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	50
Tabela 5 - Tipos de tratamento realizados e responsáveis pela cura clínica dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018)....	50
Tabela 6 - Comparação entre o grupo de pacientes com esporotricose (INI/Fiocruz - 2005 a 2008) e o grupo de pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	52
Tabela 7 - Comparação entre os diferentes tipos de manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AFLP - *Amplified fragment length polymorphism* (Polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado)
- ATCC - *American Type Culture Collection* (Coleção de microrganismos Norte Americana)
- BHI - *Brain Heart Infusion* (Infusão cérebro-coração)
- Bp – *Base Pairs* (Pares de Base)
- CAL – Calmodulina
- CEP - Comitê de Ética em Pesquisa
- DMSO - Dimetilsulfóxido
- DNA – (*Deoxyribonucleic Acid*) Ácido desoxirribonucleico
- dNTP - Deoxi-Nucleotídeo Trifosfato
- EDTA - Ethylenediamine Tetraacetic Acid (Ácido tetracético etilenodiamino)
- ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Ensaio imunoenzimático)
- EN – Eritema nodoso
- EM – Eritema multiforme
- EUA – Estados Unidos da América
- Gp70 - Glicoproteína de 70 kDa
- H&E – Hematoxilina e Eosina
- HIV - Human immunodeficiency virus (Vírus da imunodeficiência humana)
- IFN- γ -Interferon-gama
- INI – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
- ITS - *Internal Transcribed Spacer* (Região de transcrição interna)
- Kb – Kilobase
- KOH - Hidróxido de potássio
- NOS2 - Óxido nítrico sintase induzível
- OR – *Odds Ratio* (Razão de Chances)
- PAMPs - *Pathogen-associated molecular pattern* (Padrões moleculares associados a patógenos)
- PAS - *Periodic acid-Schiff* (Ácido periódico de Schiff)
- PCR - *Polimerase Chain Reaction* (Reação em cadeia da polimerase)
- PDA - *Potato Dextrose Agar* (Ágar batata dextrose)
- PGA - Pet Gel A

PRRs - *Pattern recognition receptors* (Receptores de reconhecimento de padrões)

RAPD - *Random Amplified Polymorphic DNA* (Amplificação randômica de DNA polimórfico)

RFLP - *Restriction fragment length polymorphism* (Polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição)

Rpm – Rotações por minuto

rRNA - Ribosomal ribonucleic acid (Ácido ribonucleico ribossomal)

rSsEno – *Sporothrix spp. recombinant enolase* (Enolase recombinante de *Sporothrix spp.*)

SS - Síndrome de *Sweet*

SSKI - Solução saturada de iodeto de potássio

TBE - Tris borato-EDTA

TCLE - Termo de consentimento livre e esclarecido

TES - Tris EDTA Sorbitol

TNF- α – *Tumor necrosis factor alpha* (Fator de necrose tumoral alfa)

UV - Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 ESPOROTRICOSE.....	15
1.1.1 Histórico	15
1.1.2 <i>Sporothrix</i> spp.....	15
1.1.3 Epidemiologia	19
1.1.4 <i>Sporothrix</i> spp.: resposta imune e virulência	21
1.1.5 Formas Clínicas.....	23
1.1.5.1 Reações de Hipersensibilidade.....	26
1.1.6 Diagnóstico	30
1.1.6.1 Diagnóstico Micológico.....	30
1.1.6.2 Diagnóstico Histopatológico.....	30
1.1.6.3 Diagnóstico Sorológico.....	31
1.1.6.4 Diagnóstico Molecular.....	31
1.1.6.5 Diagnóstico Diferencial.....	33
1.1.7 Tratamento	33
2 JUSTIFICATIVA	36
3 OBJETIVOS.....	37
3.1 OBJETIVO GERAL	37
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
4.1 DESENHO DO ESTUDO	38
4.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO	38
4.3 ISOLADOS CLÍNICOS.....	38
4.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	38
4.5 IDENTIFICAÇÃO GENOTÍPICA DE ISOLADOS.....	39
4.5.1 Extração de DNA.....	39
4.5.2 Utilização de marcadores moleculares específicos para a identificação de espécies.....	39
4.6 PLANO DE ANÁLISE.....	40
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
4.8 ASPECTOS ÉTICOS.....	41

5 RESULTADOS.....	42
5.1 DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS.....	44
5.2 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	46
5.3 DADOS CLÍNICO-EVOLUTIVOS.....	47
5.4 ANÁLISES DE ASSOCIAÇÕES.....	51
5.5 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR.....	56
6 DISCUSSÃO.....	58
7 CONCLUSÕES.....	70
8 PERSPECTIVAS.....	71
REFERÊNCIAS.....	72
APÊNDICE A - Município de residência dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade no estado do Rio de Janeiro (INI/Fiocruz – 2005 a 2018).....	85
APÊNDICE B - Bairro de residência dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade do município do Rio de Janeiro (INI/Fiocruz – 2005 a 2018).....	86
APÊNDICE C - Casos com a forma cutânea disseminada em pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de reação de hipersensibilidade (INI/Fiocruz – 2005 a 2018).....	87
APÊNDICE D - Localização das lesões de esporotricose nos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	88
APÊNDICE E - Comorbidades relatadas pelos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	89
APÊNDICE F - Tipos de tratamento realizados e responsáveis pela cura clínica dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).....	90
ANEXO A - Parecer consubstanciado do CEP.....	91
ANEXO B - Termo de compromisso e responsabilidade.....	99
ANEXO C - Pedido de autorização para dispensa de TCLE.....	100
ANEXO D - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	101

1 INTRODUÇÃO

1.1 ESPOROTRICOSE

1.1.1 Histórico

Em 1898, a esporotricose foi descrita pela primeira vez por Benjamin Schenck, nos Estados Unidos da América (EUA), com o relato acerca de um paciente de 36 anos com abscessos no dedo indicador e lesões no antebraço. O fungo isolado desses abscessos foi estudado pelo micologista Erwin F. Smith, que chegou à conclusão de que o mesmo pertencia ao gênero *Sporotrichum* (SCHENCK, 1898). Já em 1900, o segundo caso de esporotricose foi descrito por Hektoen e Perkins, também nos EUA, na cidade de Chicago, envolvendo uma criança de 5 anos que sofreu uma lesão no dedo ao manusear um martelo, lesão esta que regrediu espontaneamente. Esses autores deram ao agente da esporotricose a atual denominação de *Sporothrix schenckii* (HEKTOEN; PERKINS, 1900). Posteriormente, este fungo foi novamente incluído ao gênero *Sporotrichum*; nomenclatura que permaneceu até 1962, quando, por meio de estudos de diferenciação morfológica, Carmichael reconheceu diferenças na formação dos conídios entre isolados do gênero *Sporotrichum* e de fungos isolados de casos de esporotricose (CARMICHAEL, 1962).

Lutz e Splendore, em 1900, identificaram o primeiro caso no Brasil de infecção natural em animais (ratos) pelo fungo (LUTZ; SPLENDORE, 1907). Apesar da susceptibilidade de gatos para a infecção por *S. schenckii* ter sido demonstrada experimentalmente em 1909, a esporotricose felina naturalmente adquirida foi relatada apenas no início dos anos 50 nos EUA e, no Brasil, em 1956 (BEURMANN; GOUGEROT; VAUCHER, 1909 apud, FREITAS 2014; FREITAS; MIGLIANO; NETO, 1956 apud FREITAS, 2014; SINGER; MUNCIE, 1952). No século XX, diversos surtos foram relatados em vários países da América do Sul, Europa, África e EUA, sendo este último o local de maior prevalência da doença na época (RIPPON, 1988). Atualmente, a doença é considerada mais frequente nas Américas (Central e Sul) e na Ásia, com alguns casos na Europa (BARROS et al., 2004; DIAS et al., 2011; FALCÃO et al., 2019; SONG et al., 2013; VERMA et al., 2012; ZHAO et al., 2017).

1.1.2 *Sporothrix* spp.

Sporothrix spp. pertence ao Reino Fungi. Durante vários anos, este fungo foi incluído na Divisão Eumycota, Subdivisão Deuteromycotina, classe Hyphomycetes, Ordem Moniliales e Família Moniliaceae (LACAZ et al., 1998). Depois de uma importante revisão da taxonomia

dos fungos por Guarro et al. (1999), o mesmo foi caracterizado na Divisão Ascomycota, Classe Pyrenomycetes, Ordem Ophiostomatales, Família Ophiostomataceae. Em 2007, após análises fenotípicas e genotípicas a partir de isolados adquiridos de diferentes países, Marimon et al. sugeriram que *S. schenckii* não fosse considerada a única espécie causadora da esporotricose. Outras espécies do gênero *Sporothrix* causadoras da doença foram identificadas e posteriormente novas espécies foram descritas. São conhecidas mais de 50 espécies no gênero, sendo sete até hoje de interesse clínico, divididas em um clado clínico (*Sporothrix schenckii*, *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix globosa* e *Sporothrix luriei*) e um clado ambiental (*Sporothrix pallida*, *Sporothrix mexicana* e *Sporothrix chilensis*). As espécies deste segundo clado parecem ter baixa capacidade de causar infecção e, quando esta ocorre, são consideradas oportunistas (GREMIÃO et al., 2017; OROFINO-COSTA, et al., 2017; RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2013).

Sporothrix schenckii stricto sensu: espécie globalmente distribuída, mais associada à transmissão clássica, mas já com relatos de transmissão zoonótica felina (KANO et al., 2015; OROFINO-COSTA., et al. 2017).

Sporothrix globosa: espécie globalmente distribuída e pouco virulenta (MADRID et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2010).

Sporothrix brasiliensis: principal causadora da epidemia zoonótica de esporotricose observada no estado do Rio de Janeiro e considerada a mais virulenta em modelos murinos (ARRILLAGA-MONCRIEFF et al., 2009; DELLA-TERRA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2011).

Sporothrix pallida: conhecida anteriormente como *Sporothrix albicans* e relacionada a amostras ambientais (MARIMON et al., 2007).

Sporothrix mexicana: encontrada em amostras ambientais do México e em alguns casos de esporotricose humana na Europa e no Brasil (DIAS et al., 2011; MARIMON et al., 2007).

Sporothrix luriei: espécie anteriormente conhecida como *S. schenckii* var. *luriei*, foi descrita na África e um segundo caso humano foi diagnosticado na Índia (MARIMON et al., 2008; RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2013).

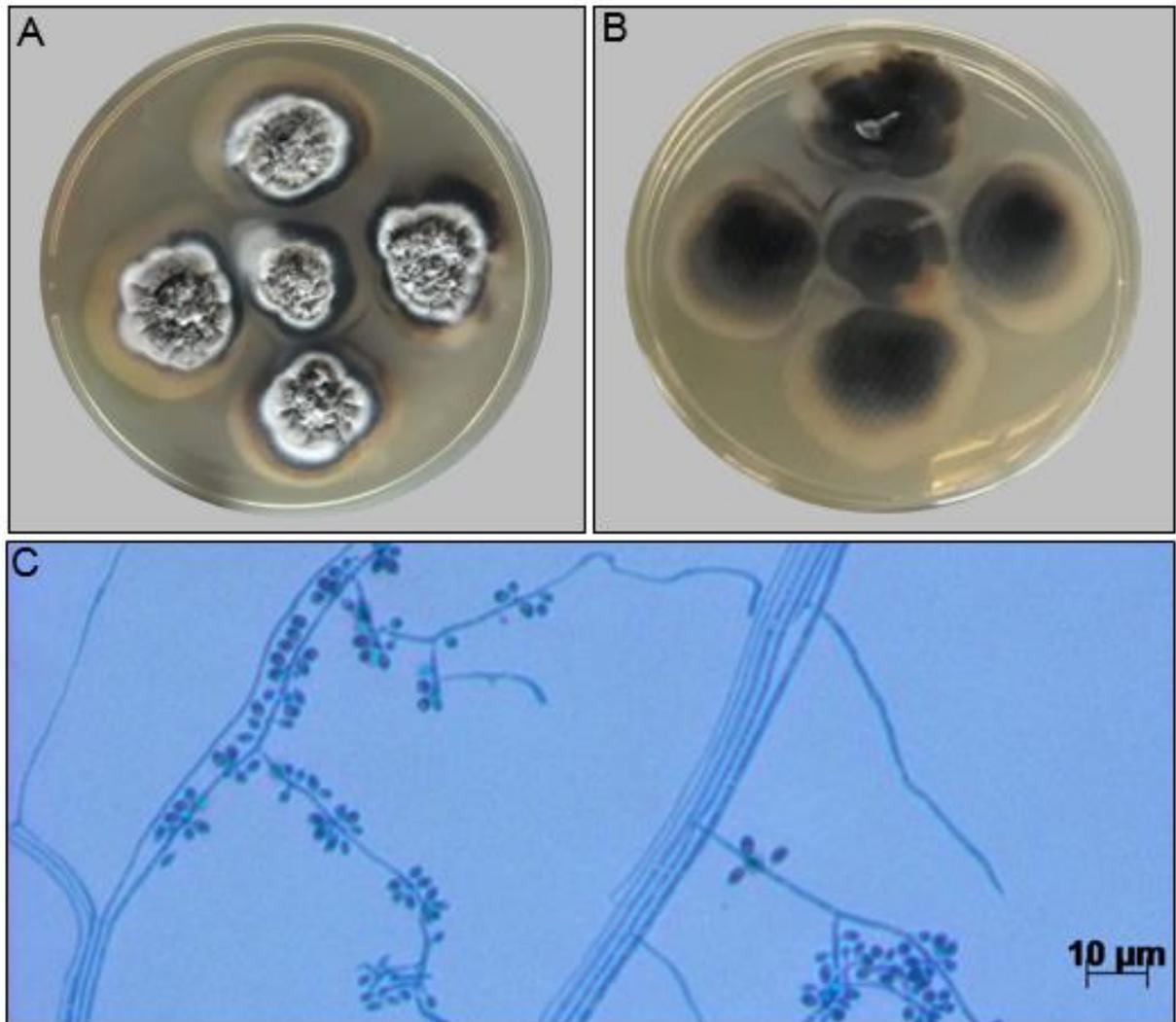
Sporothrix chilensis: relacionada a amostras ambientais oriundas do Chile e um isolado de um paciente com onicomiose. Por meio do modelo de esporotricose disseminada em murinos, ensaios de virulência revelaram potencial patogênico e análises filogenéticas demonstraram que *S. chilensis* agrupa-se ao clado das espécies ambientais de *Sporothrix* spp. (OROFINO-COSTA., et al. 2017; RODRIGUES et al., 2016).

Uma chave de identificação taxonômica com características fenotípicas foi proposta e descrita por Marimon et al. (2007). Entretanto, a identificação de espécies baseada em análises fenotípicas não era suficiente, uma vez que variações intraespecíficas em um estudo com isolados da hiperendemia do Rio de Janeiro, obtidos entre os anos de 1998 e 2008, por Oliveira et al. (2011) foram observadas. Com isso, é fundamental a utilização de ferramentas moleculares quando se deseja a identificação de isolados em nível de espécie.

Por serem fungos termodimórficos, na fase sapróbia ou quando cultivados a 25°C, *Sporothrix* spp. assumem forma filamentosa. Macroscopicamente (**Figura 1A e 1B**), suas colônias são membranosas e brancas a creme no início, adquirindo uma tonalidade que varia do marrom ao negro após alguns dias; contudo, colônias escuras podem ser formadas desde o início do crescimento por algumas cepas e o verso varia de incolor a castanho. Microscopicamente (**Figura 1C**), apresentam-se como hifas hialinas, septadas e ramificadas de 1-2 µm de largura, com conidióforos que surgem de hifas indiferenciadas e que formam conídios em grupos, em pequenos dentículos. Estes conídios unicelulares apresentam forma de lágrima a clavados (ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2011).

Quando cultivadas de 35 a 37°C ou em parasitismo, assumem forma leveduriforme. Macroscopicamente (**Figura 2A e 2B**), suas colônias são cremosas e lisas, variando da cor bege a creme e verso incolor. Microscopicamente (**Figura 2C**), as células leveduriformes podem ser observadas de várias formas, tais como redondas ou ovais, com 2 a 6 µm de diâmetro. Geralmente, têm brotamento alongado em forma de charuto, saindo de uma base estreita da célula-mãe. Vale ressaltar que as espécies do clado ambiental produzem menos células leveduriformes do que as do clado clínico, demonstrando deficiência na transição morfológica (OROFINO-COSTA et al., 2017; ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2011).

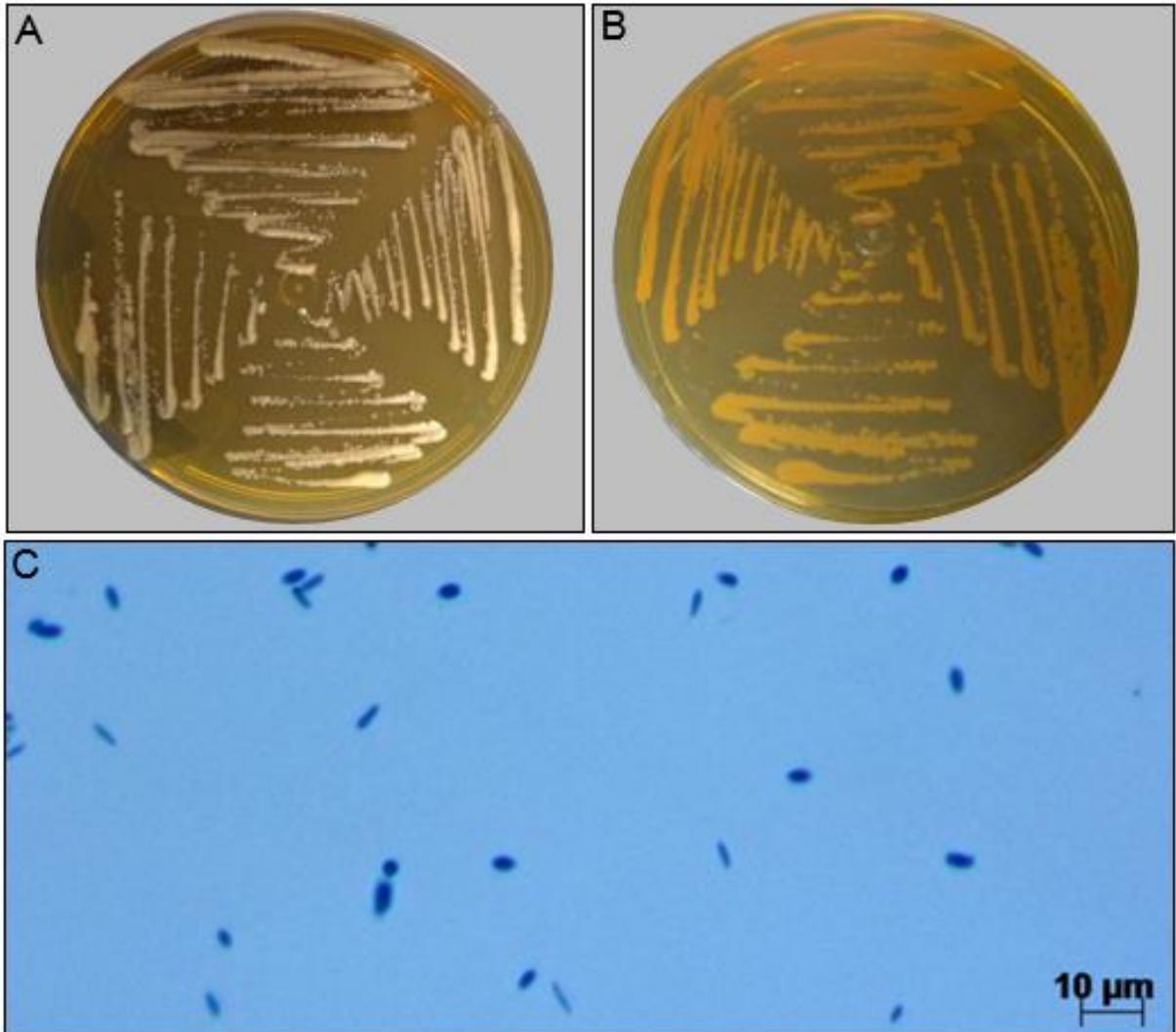
Figura 1- Macro e micromorfologia da fase filamentosa de *Sporothrix* spp.



Legenda: Forma filamentosa de *Sporothrix* spp. em meio Àgar Batata Dextrose (PDA). (A) Colônia membranosa, branca, com halo acastanhado. (B) Verso acastanhado. (C) Hifas hialinas, septadas, ramificadas e conidióforo com conídeos piriformes organizados ao redor do mesmo. Corado com azul de algodão. Aumento 400x.

Fonte: Autoria própria.

Figura 2 – Macro e micromorfologia da fase leveduriforme de *Sporothrix* spp.



Legenda: Forma leveduriforme de *Sporothrix* spp. em meio Ágar Infusão Cérebro-Coração (BHI). (A) Colônia cremosa, lisa e de cor creme. (B) Verso incolor. (C) Células ovais ou em formato de charuto. Corado com azul de algodão. Aumento 400x.

Fonte: Autoria própria

1.1.3 Epidemiologia

Sporothrix spp. distribuem-se mundialmente, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, com áreas de alta endemicidade na América Latina (ALMEIDA-PAES et al., 2014; CONTI-DIAZ, 1989) e parece haver associação a características clínicas peculiares, como *S. brasiliensis* na hiperendemia do estado do Rio de Janeiro, que se relaciona a manifestações clínicas incomuns e potencialmente graves (ALMEIDA-PAES et al., 2014).

A forma clássica de transmissão ocorre pelo traumatismo cutâneo com farpas de madeira ou espinhos de roseira, por exemplo, e atinge principalmente agricultores, jardineiros

ou indivíduos que entram em contato com esses e outros substratos orgânicos, habitat natural do fungo em sua forma filamentosa (CHAKRABARTI et al., 2015; CRUZ; VIEILLE; OSCHILEWSKI, 2012; MCGUINNES et al., 2016; ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2011). Casos raros de infecção por inalação de propágulos de células fúngicas podem ocorrer, ocasionando doença pulmonar, neste caso, esporotricose sistêmica (SINGHAI et al., 2012). A transmissão zoonótica do agente causador também é possível e vem predominando na hiperendemia do Rio de Janeiro, iniciada em 1998, tendo como principal fonte o gato doméstico ou errante (doente ou sadio), por meio da arranhadura/mordedura ou pelo contato com as lesões do mesmo, acometendo principalmente mulheres do lar, crianças e idosos e outras pessoas que lidam com estes animais (CORDEIRO et al., 2011; FREITAS et al., 2010; SCHUBACH et al., 2005; SILVA et al., 2012).

Epidemias envolvendo grande número de pessoas ou amplas regiões geográficas são raras e têm sido relacionadas a uma fonte de infecção comum no ambiente. Até o início dos anos 2000, a maior epidemia conhecida de esporotricose havia sido registrada na África do Sul, entre 1941 a 1944, envolvendo trabalhadores de minas subterrâneas, cujos dormentes (madeiras) de sustentação estavam contaminados pelo fungo (QUINTAL, 2000). Nos EUA, foram descritos surtos relacionados ao trabalho em florestas, com mudas de pinheiro e manipulação de musgo em 1988 (COLES et al., 1992). Entre os anos de 1992 e 1993, também nos EUA, ocorreu uma microepidemia de esporotricose pela infecção de pessoas após contato com feno estocado em uma casa abandonada, onde se realizavam festas de Halloween (DOOLEY et al., 1997). Outro importante relato de esporotricose associada à infecção não zoonótica ocorreu no Sudoeste da Austrália, entre os anos de 2000 e 2003, com um surto tendo novamente o feno como material contaminado (MCGUINNESS et al., 2016). Em 2013, no Nordeste da China, recente epidemia revelou a manipulação de gravetos para aquecimento domiciliar nos meses de inverno como a forma de aquisição da doença (SONG et al., 2013).

O papel do gato na transmissão zoonótica ganhou importância quando um surto foi relatado envolvendo cinco pessoas expostas a um gato com esporotricose. No Brasil, os principais surtos descritos tinham ocorrido nos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul, com rápido controle epidemiológico (MADRID et al., 2010; MARQUES et al., 1993). Em Minas Gerais, Paraná e Distrito Federal também já foram publicados casos de transmissão zoonótica (CORDEIRO et al., 2011; RODRIGUES et al., 2013). Desde 1998, observa-se a maior epidemia de transmissão zoonótica no Rio de Janeiro. No período de 1998 a 2012, a esporotricose foi diagnosticada em mais de 4.000 humanos e 3.800 gatos no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas – Fundação Oswaldo Cruz (INI-Fiocruz). Desde

2013, devido ao status hiperendêmico e o grave problema de saúde da esporotricose no Rio de Janeiro, a notificação é obrigatória no estado, mas não em outros estados, subestimando a real importância epidemiológica da doença em relação a surtos e epidemias (GREMIÃO et al., 2015; GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015; OROFINO-COSTA et al., 2017; PEREIRA et al., 2014).

De acordo com Silva et al. (2012), a esporotricose na região metropolitana do Rio de Janeiro ficou evidenciada como uma doença urbana, não laborativa e de localidades carentes de condições de infraestrutura e saneamento. Segundo os autores, esta doença não é relacionada ao grau de escolaridade dos indivíduos, mas sim influenciada pelos seus hábitos e estilo de vida. Já a carência de suporte laboratorial em centros de saúde para o diagnóstico da doença influencia na falta de controle da mesma (BARROS et al., 2010).

1.1.4 *Sporothrix* spp.: resposta imune e virulência

As respostas imunes inata e adaptativa são consideradas as principais formas de defesa do organismo a fim de erradicar e controlar fungos patogênicos. Os mecanismos de evasão exercidos pelo patógeno e controle da infecção pelo hospedeiro ainda não são bem compreendidos. Entretanto, eles possivelmente incluem respostas humorais e celulares. A imunidade inata também é responsável por desencadear uma resposta protetora na patogênese da doença (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; GARCIA-CARNERO et al., 2018).

Para que a interação patógeno-hospedeiro ocorra, a primeira linha de defesa do organismo, que envolve a pele e mucosas, deve ser superada pelo fungo. O papel da imunidade inata inicia-se por meio do reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), presentes na superfície das células fúngicas. Os mesmos são reconhecidos por receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), incluindo receptores do tipo *Toll*, na superfície das células hospedeiras, que permitem o reconhecimento de patógenos, ativando o sistema imune inato e liberando citocinas pró-inflamatórias. Com isso, os macrófagos são capazes de eliminar o patógeno por meio da fagocitose e apresentar os antígenos do mesmo (ALBA-FIERRO et al., 2016; ALMEIDA, 2012; GARCIA-CARNERO et al., 2018).

Na imunidade adaptativa, a resposta celular Th1 é de grande importância na patogênese da esporotricose e requer a ação de macrófagos ativados. Eles podem ser ativados por meio de linfócitos T CD4⁺ produtores de interferon-gama (IFN- γ), que é um forte ativador de macrófagos e importante na defesa do organismo, estabelecendo uma ligação entre a resposta imune inata e adaptativa (ALMEIDA, 2012; CARLOS et al., 2009; TACHIBANA;

MATSUYAMA; MITSUYAMA, 1999). O papel da resposta humoral contra *Sporothrix* spp. ainda não é bem compreendido. A parede celular do fungo desempenha um papel importante na interação patógeno-hospedeiro e os componentes presentes nela, especialmente a glicoproteína 70kDa (gp70), que possui efeito protetor no hospedeiro por meio da ação de anticorpos. Sendo assim, a presença de moléculas imunodominantes constitui um importante papel antigênico para estudos envolvendo possíveis vacinas contra *Sporothrix* spp. Em contrapartida, essa molécula facilita a aderência do fungo ao epitélio, aumentando o seu potencial invasivo (CASTRO et al., 2013; DELLA-TERRA et al., 2017; GARCIA-CARNERO et al., 2018; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2019; NASCIMENTO; ALMEIDA, 2005; NASCIMENTO et al., 2008; RODRIGUES et al., 2015; RUIZ-BACA et al., 2009).

Portuondo et al. (2019) relataram pela primeira vez a presença de enolase, uma metaloenzima que foi proposta como alvo antigênico para fins diagnósticos, terapêuticos e profiláticos contra diferentes doenças, na parede celular de *Sporothrix* spp. Nesse estudo, foi realizada a expressão e purificação da proteína enolase recombinante de *Sporothrix* spp. (rSsEno). A mesma, com o auxílio de Montanide™ Pet Gel A (PGA), um adjuvante polimérico projetado para melhorar a eficácia e segurança das vacinas (PORTUONDO et al., 2017), foi capaz de induzir uma produção elevada de anticorpos específicos que favoreceram a proteção de camundongos que foram infectados com um isolado altamente virulento de *S. brasiliensis*. Com isso, é sugerido que a enolase de *Sporothrix* spp. possa ser um candidato para fins vacinais. A expressão dessa proteína é mais elevada na parede celular de isolados de *S. brasiliensis* do que de *S. schenckii*, podendo estar relacionada também com a invasividade e virulência no hospedeiro. Idade, estado imunológico do hospedeiro, método de administração, dose e frequência devem ser considerados e estudados para garantir eficácia e segurança. A vacina direcionada ao animal também pode auxiliar no controle da transmissão zoonótica. No entanto, ainda há alguns desafios relacionados à identificação de antígenos protetores, ao desenvolvimento de uma vacina segura, à expansão de estudos sobre a interação do fungo com seus diferentes hospedeiros e à aquisição de apoio financeiro para as fases de pesquisa e desenvolvimento (TELLEZ-MARTÍNEZ et al., 2019).

A virulência pode ser entendida como um recurso que permite ao microrganismo sobreviver e muitas vezes permitir a ampliação de seu crescimento no hospedeiro. Padrões distintos de virulência em modelo murino já foram demonstrados entre as diferentes espécies do gênero *Sporothrix*. *S. brasiliensis* é considerada a espécie mais virulenta em termos de carga e dano tecidual, juntamente com a mortalidade (ALMEIDA-PAES et al., 2015; ARRILLAGA-MONCRIEFF et al., 2009; FERNANDES et al., 2013).

Os principais fatores determinantes para a virulência e evasão do sistema imune incluem: produção de determinadas proteínas, adesinas, peróxido de ergosterol, produção de melanina e a termotolerância (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011). Há hipóteses relacionadas à função de diferentes proteínas na virulência. Acredita-se que as fosfatases ácidas, por exemplo, desempenham um papel na interação entre as células leveduriformes do fungo com macrófagos, apesar de não haver evidências diretas atribuídas a esse papel (HOGAN; KLEIN; LEVITZ, 1996). A expressão de adesinas presentes na superfície das células leveduriformes do fungo facilitam na adesão do mesmo a fim de infectar os tecidos do hospedeiro, contribuindo para a sua disseminação (LIMA et al., 2004). O peróxido de ergosterol age como um mecanismo de proteção, permitindo a sobrevivência de células leveduriformes após a fagocitose por células polimorfonucleares do hospedeiro (CARLOS et al., 2009). As melaninas são pigmentos produzidos pelo fungo, sendo capazes de aumentar a resistência do mesmo à fagocitose por macrófagos (ROMERO-MARTINEZ et al., 2000). Já a termotolerância permite ao fungo suportar e crescer na temperatura corporal de hospedeiros endotérmicos (HOGAN; KLEIN; LEVITZ, 1996).

Diferenças na composição química da parede celular e expressão de proteínas exclusivas são características únicas que podem influenciar na ativação de macrófagos e células dendríticas, permitindo a evasão e disseminação de *S. brasiliensis* (BATISTA-DUHARTE et al., 2018; MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2017; ROSSATO et al., 2018). O equilíbrio entre esses possíveis fatores de virulência e a resposta imune de cada indivíduo impacta nas diferentes manifestações clínicas observadas.

1.1.5 Formas Clínicas

As formas clínicas da esporotricose são variáveis e estão relacionadas ao estado imune do hospedeiro, quantidade e profundidade do inóculo fúngico, patogenicidade e termotolerância da cepa. Uma vez que diferentes espécies de *Sporothrix* parecem estar relacionadas a manifestações clínicas distintas, é proposto que a identificação das espécies se torne uma prática laboratorial padrão (ALMEIDA-PAES et al., 2014; BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; MARQUES et al., 2015; ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2011).

São descritas desde formas com acometimento localizado da pele até formas disseminadas com comprometimento pulmonar, ósseo, meningoencefálico, dentre outros. Após a inoculação traumática do fungo, quatro tipos de formas clínicas podem ocorrer: linfocutânea, cutânea fixa, cutânea multifocal ou cutânea disseminada e extracutânea (disseminada ou visceral). Apesar de existirem outras classificações propostas para as formas

clínicas, a equipe de dermatologia do INI-Fiocruz segue a classificação adotada por Sampaio, Lacaz e Almeida (1954) (ALMEIDA-PAES et al., 2015; ZHANG et al., 2011).

Forma linfocutânea (Figura 3A): apresentação clínica mais comum (quase 80% dos casos) na qual desenvolvem-se lesões geralmente em locais sujeitos a trauma, como as extremidades superiores, inferiores ou face com o surgimento de úlceras e nódulos próximos à lesão primária, em distribuição linfática. Por se tratar da forma mais típica da doença, o seu diagnóstico clínico é considerado mais fácil, apesar de não patognomônico (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; LOPEZ-BEZERRA; SCHUBACH; OROFINO-COSTA, 2006; OROFINO-COSTA et al., 2017).

Forma cutânea fixa (Figura 3B): costuma ser a segunda forma mais comum (cerca de 25% dos casos) e é caracterizada por uma lesão localizada no ponto de inoculação sem envolvimento linfático, em menor extensão e sem acometimento de órgãos internos (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; FREITAS, 2014; OROFINO-COSTA et al., 2017).

Forma cutânea multifocal ou disseminada (Figura 3C): apresentação clínica menos frequente que as anteriores (menos de 5% dos casos) e descrita pela presença de múltiplas lesões na pele, ou propagação por meio da via hematogênica a partir do local inicial da inoculação. Hospedeiros coinfectados com HIV são os principais acometidos, uma vez que está associada à deficiência de linfócitos T CD4⁺ (< 200 células/ μ L), fator importante no controle do patógeno, sendo assim considerado um agente oportunista. No caso de hospedeiros imunocompetentes, esta forma clínica está vinculada com a transmissão zoonótica por gatos domésticos devido às múltiplas e repetidas inoculações durante o contato dos pacientes com seus animais doentes (BARROS et al., 2004; BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; FREITAS, 2014; MOREIRA; FREITAS; LAMAS, 2015; OROFINO-COSTA et al., 2017; PAIXÃO et al., 2015; ZHANG et al., 2011).

Forma extracutânea (Figura 3D): apresentação clínica de difícil diagnóstico e corresponde a menos de 2% dos casos. A esporotricose pode afetar outros órgãos, seja por disseminação do agente por contiguidade ou por doença sistêmica com disseminação hematogênica, com febre e comprometimento geral. Diversas condições predisponentes do indivíduo levam a este tipo de apresentação: alcoolismo crônico, diabetes mellitus, tratamento com corticoide sistêmico, doença pulmonar obstrutiva crônica e pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (aids). Os sítios de acometimento são diversos e as manifestações clínicas, inerentes aos órgãos e sistemas envolvidos:

Osteoarticular: considerado o local de maior acometimento, depois da pele. Os locais afetados incluem: tíbia, ossos das mãos, rádio, ulna e ossos do crânio juntamente com as

articulações das mãos, punho, cotovelo, tornozelo e joelho (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; MORRIS-JONES, 2002).

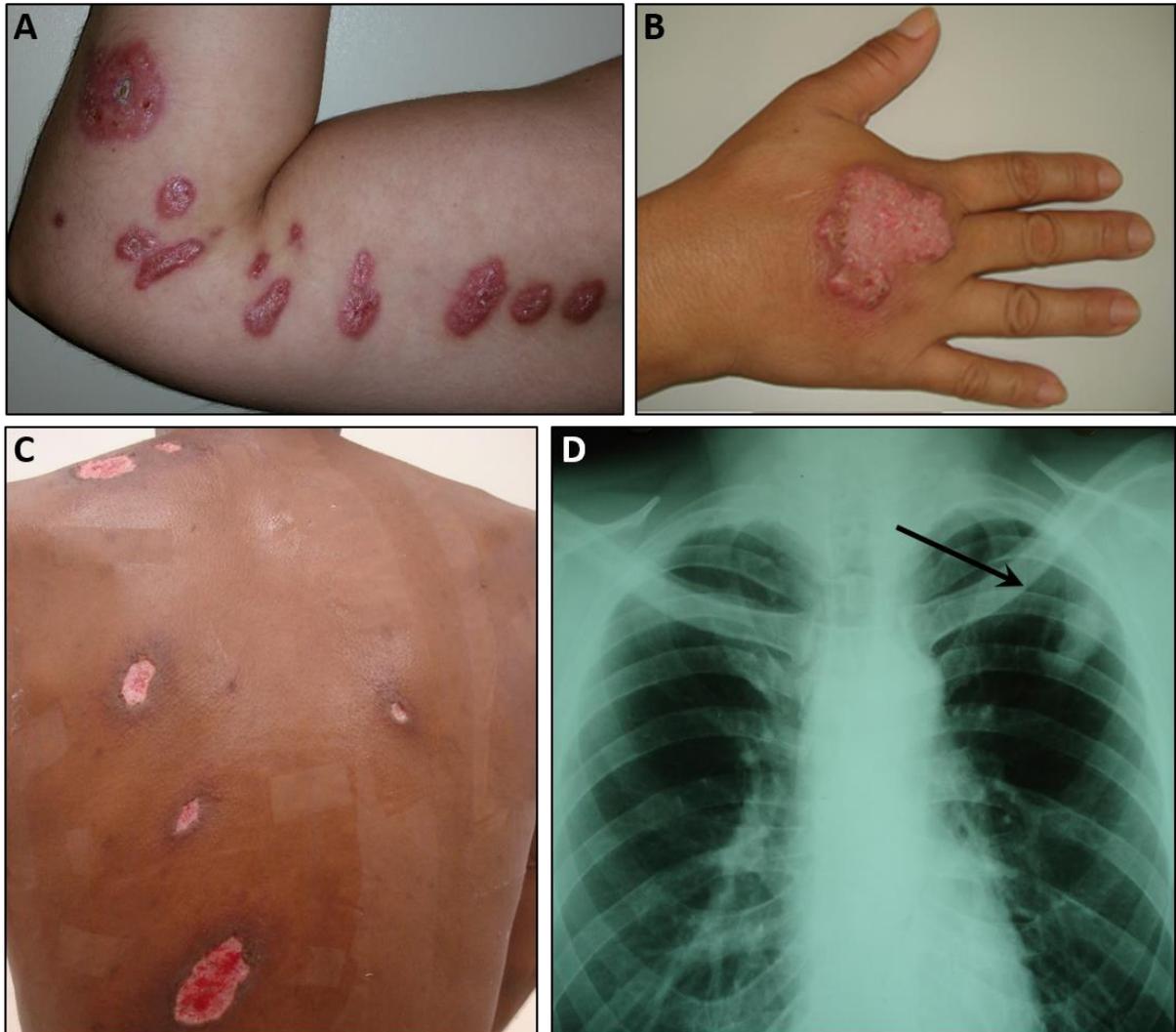
Pulmonar (Figura 3D): mais frequentemente adquirida como infecção primária pela inalação de conídios do fungo. Suas manifestações clínicas são semelhantes a infecções pulmonares como tuberculose ou outras micoses pulmonares e sarcoidose, com tosse, febre, mal-estar e perda de peso (AUNG et al., 2013; OROFINO-COSTA, 2013b; SILVA et al., 2013).

Nervosa: meningoencefalite insidiosa é a apresentação observada e hidrocefalia é uma complicação potencial e grave nestes casos. Abscesso cerebral ou meningite crônica também podem ocorrer (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; GUTIERREZ-GALHARDO; FREITAS; VALLE, 2015; PAIXÃO et al., 2015).

Mucosa: acomete a boca, nariz, faringe e laringe seja por via direta ou hematogênica (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; GUTIERREZ-GALHARDO; FREITAS; VALLE, 2015).

Ocular: ocorre como a mais frequente forma mucosa, mas o acometimento oftálmico pode ocorrer em qualquer estrutura ocular, por meio da autoinoculação ou trauma primário ou por disseminação hematogênica e pode manifestar-se como conjutivite ou dacriocistite, por exemplo. Em casos raros pode levar à cegueira total (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; FREITAS, 2014; MACEDO et al., 2015; ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2011; ZHANG et al., 2011).

Figura 3 - Formas clínicas da esporotricose.



Legenda: Formas clínicas da esporotricose - (A) Linfocutânea, (B) Cutânea Fixa, (C) Cutânea Disseminada, (D) Extracutânea (pulmonar).

Fonte: Fotos gentilmente cedidas pelo Dr. Dayvison Francis Saraiva Freitas.

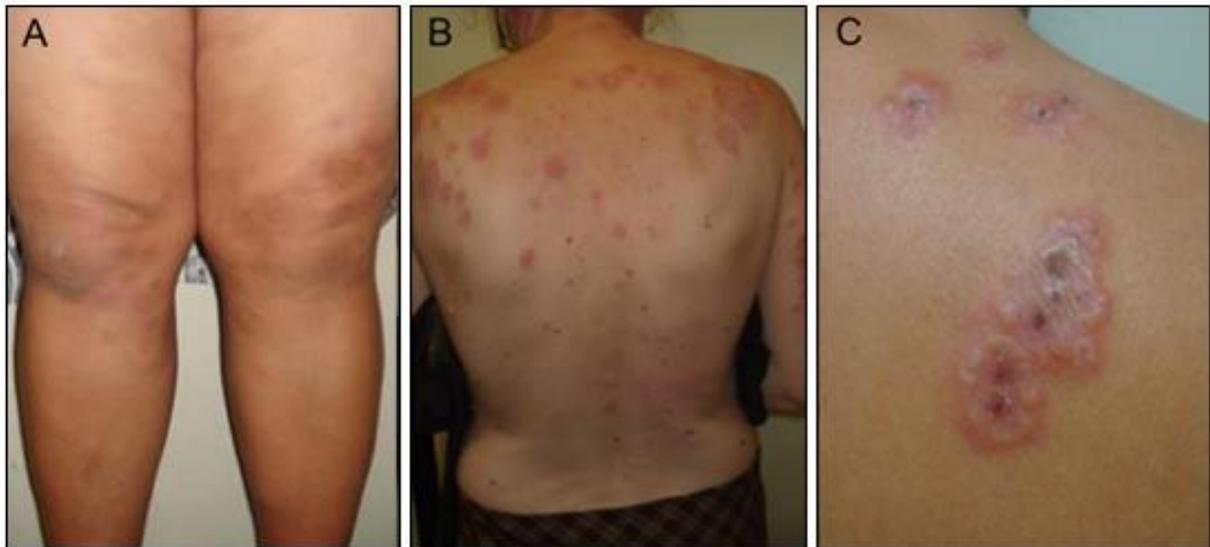
1.1.5.1 Reações de Hipersensibilidade

A hipersensibilidade pode ser entendida como um estado anormal de reatividade imunológica com efeitos deletérios ao hospedeiro, resultante da interação entre antígenos (endógenos ou exógenos), ao qual ele é hipersensível, e anticorpos. Esta pode ser classificada como imediata ou tardia, dependendo do tempo da exposição ao antígeno. Em 1983, os imunologistas Philip Gell e Robin Coombs propuseram uma classificação das reações de hipersensibilidade em quatro tipos, de acordo com o tempo e a etiologia. As reações do tipo I, II e III são mediadas por anticorpos e podem ou não contar com a participação do sistema complemento. Já as do tipo IV são mediadas por células. As reações do tipo IV surgem através de reações estimuladas por antígenos específicos de células T. Estas reações podem

levar mais de 12 horas para se desenvolver, com isso, também são conhecidas como reações de hipersensibilidade tardias. Geralmente essas reações ocorrem após o contato de um antígeno com a pele. O antígeno é pego no local por células da resposta inata, como macrófagos, que agem como apresentadores de antígenos e ativam células T CD4⁺ específicas para os antígenos. As células T ativadas desta forma tendem a adotar um perfil de Th1 e migrar para a área com alta concentração de antígenos, onde liberam citocinas inflamatórias como IFN- γ , IL-1, IL-2 e IL-6. Como resultado, ocorre a inflamação local pelo aumento da permeabilidade vascular e pela migração e ativação de outras células (VIRELLA, 1998).

Condições clínicas associadas não são infrequentes no curso da esporotricose. Além dos sintomas gerais como febre, mal-estar, cefaleia, astenia, e outros, sinais e sintomas de hipersensibilidade ao fungo no organismo são apresentados por alguns pacientes (BARROS et al., 2004; FREITAS et al., 2010). As reações de hipersensibilidade descritas até o momento, atribuídas à esporotricose, incluem eritema nodoso (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2002) (**Figura 4A**), eritema multiforme (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2005) (**Figura 4B**), síndrome de *Sweet* (FREITAS et al., 2012) e artrite reativa (OROFINO-COSTA et al., 2010) (**Figura 4C**).

Figura 4: Manifestações cutâneas de hipersensibilidade da esporotricose.



Legenda: (A) Eritema nodoso, (B) Eritema multiforme, (C) Síndrome de *Sweet*.

Fonte: Fotos gentilmente cedidas pelo Dr. Dayvison Francis Saraiva Freitas.

O eritema nodoso (EN) é uma condição que foi descrita pela primeira vez por Robert Willan em 1798, no qual nódulos eritematosos e dolorosos de surgimento eruptivo nos membros inferiores são observados, em função de uma resposta a uma variedade de

antígenos, levando a uma paniculite neutrofílica que afeta o tecido adiposo subcutâneo. Geralmente acomete pacientes do sexo feminino (CHOWANIEC; STARBA; WILAND, 2016; LEUNG; LEONG; LAM, 2018; SCHWARTZ; NERVI, 2007; WILLAN, 1809).

Características histopatológicas podem ser explicadas pela cronologia das lesões. Reações agudas envolvem neutrófilos, enquanto em reações crônicas observa-se uma mudança de infiltrado neutrofílico para linfo-histiocitário. O EN pode vir acompanhado de febre, artralgia e mal-estar. O diagnóstico diferencial inclui outras formas de paniculite, especialmente vasculite nodular, infecções subcutâneas causadas por bactérias ou fungos e vasculites cutâneas. Com isso, a investigação histopatológica é crucial para o diagnóstico definitivo (BLAKE; MANAHAN; RODINS, 2014; CRIBIER et al., 1998; GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2002; LEUNG; LEONG; LAM, 2018; WINKELMANN; FORSTROM, 1975).

O eritema multiforme (EM) é uma doença dermatológica vésico-bolhosa descrita pela primeira vez por Ferdinand Von Hebra em 1866, caracterizada por uma desordem inflamatória com manifestações de espectro variável de acometimento cutâneo. É mais comum em jovens adultos do sexo masculino (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2005; HEBRA, 1866; LERCH et al., 2018; MARTINEZ et al., 2010). A mesma pode ser classificada como:

EM *minor* e *major*: termos descritos em 1950 por Bernard A. Thomas. O EM *minor* representa uma forma benigna da doença, afetando principalmente a pele e minimamente as mucosas. Já o *major* possui um padrão mucocutâneo. O envolvimento da pele é considerado mais extenso, constituindo um tipo mais grave da doença (LUNA; CARVALHO, 2008; MARTINEZ et al., 2010; THOMAS, 1950).

Síndrome de Stevens-Johnson (SSJ): descrita pela primeira vez em 1922 por Stevens e Johnson. É considerada uma grave variante do EM, normalmente acometendo a pele e as mucosas com erosões hemorrágicas, em grandes extensões (AYANGCO; ROGERS, 2003; BRUCE-HICKMAN et al., 2019; LUNA; CARVALHO, 2008; STEVENS; JOHNSON, 1922).

Necrólise epidérmica tóxica (NET): descrita por Allan Lyell em 1956. Considerada a forma mais grave do EM e caracterizada pela descamação semelhante a queimaduras de segundo grau e desprendimento de toda a pele, com acometimento das mucosas, principalmente a oral (LUNA; CARVALHO, 2008; LYELL, 1956; MARTINEZ et al., 2010).

Acreditava-se que essas duas classificações eram estágios evolutivos da mesma doença, porém atualmente são considerados distintos, devido à histopatologia, etiologia e

manifestações clínicas diferentes (CARRASQUILLO et al., 2019; LUNA; CARVALHO, 2008).

As manifestações cutâneas surgem inicialmente nas extremidades, onde são planas, redondas e vermelho-escuras. As lesões cutâneas características do EM são caracterizadas como anéis eritematosos circulares, em forma de alvo e com uma borda bem definida. Características histopatológicas incluem dermatite de interface com degeneração de células epidérmicas basais, infiltrado linfo-histiocitário e necrose de queratinócitos. Os sintomas associados a esse tipo de reação incluem febre, mal-estar e desconforto associado à erupção. O diagnóstico diferencial inclui desordens relacionadas à descamação da pele, como queimaduras, pênfigo vulgar, herpes simples, sífilis secundária, eritrodermia, dentre outras (ARNOLD; GAL; STEIN, 2019; LERCH et al., 2018; MARTINEZ et al., 2010; WONG; MALVESTITI; HAFNER, 2016).

A Síndrome de *Sweet* (SS) é uma doença que foi descoberta por Robert Douglas Sweet em 1964. É caracterizada pelo início abrupto de pápulas, placas ou nódulos eritematosos dolorosos e leucocitose com neutrofilia no hemograma e normalmente acomete mulheres de meia idade. Clinicamente apresenta-se de forma aguda, acompanhada por mal-estar, febre e cefaleia. As lesões são distribuídas assimetricamente geralmente acometendo face, pescoço e membros superiores (FREITAS et al., 2012; SWEET, 1964; VILLARREAL-VILLARREAL; OCAMPO-CANDIANI; VILLARREAL-MARTÍNEZ, 2015; WOJCIK; NISHIMORI; SANTAMARÍA, 2011).

A histopatologia da SS demonstra predominantemente um denso infiltrado neutrofílico sem evidência de vasculite primária. Ocasionalmente linfócitos e histiócitos também podem estar presentes nesse infiltrado inflamatório. O diagnóstico diferencial dessa doença inclui diversas lesões cutâneas, podendo estar associadas vasculites, infecções fúngicas e bacterianas, carcinomas e outros distúrbios inflamatórios, como eritema nodoso, eritema multiforme, lúpus eritematoso, dentre outros (ARNOLD; GAL; STEIN, 2019; FREITAS et al., 2012; RAMOS; SANTIAGO; TOMÉ, 2013; SWEET, 1964; VILLARREAL-VILLARREAL; OCAMPO-CANDIANI; VILLARREAL-MARTÍNEZ, 2015).

Esses quadros reacionais são classificados como do tipo IV e, apesar de terem distinção clínica e histopatológica, têm associações conhecidas e descritas semelhantes. Constituem síndromes com mecanismos de hipersensibilidade no contexto de neoplasias, doenças inflamatórias, uso de medicamentos e infecções virais, como herpes, HIV e hepatite; bacterianas, como tuberculose, faringite estreptocócica e hanseníase; e fúngicas, como histoplasmose, coccidioidomicose e dermatofitose causada por *Trichophyton mentagrophytes*

(ARNOLD; GAL; STEIN, 2019; CHAN; GOLDMAN, 2013; ELTOHAMI; ALIM; ABUAFFAN, 2017; GARCIA et al., 2015; KRITSOTAKIS, 2017; OZBAGCIVAN et al., 2017; OZOLS; WHEAT, 1981; SALIM; YOUNG, 2002; SCHWARTZ; NERVI, 2007).

1.1.6 Diagnóstico

1.1.6.1 Diagnóstico Micológico

A cultura é considerada teste padrão de referência para o diagnóstico da esporotricose. Ela é baseada no isolamento e identificação de seu agente causal a partir de espécimes clínicos como fragmentos de lesões cutâneas, pus. No caso de esporotricose disseminada ou extracutânea, escarro, urina, sangue, líquido sinovial e cefalorraquidiano também podem ser analisados dependendo dos órgãos e sistemas acometidos. As estruturas de *Sporothrix* spp. são raramente visualizadas no exame micológico direto em humanos, que é feito com preparações de hidróxido de potássio (KOH) a 10%, na presença ou não de dimetilsulfóxido (DMSO). Já em felinos, o exame micológico direto é mais sensível devido à grande quantidade de células fúngicas nos tecidos, demonstrando uma sensibilidade de quase 85% em relação à cultura (OROFINO-COSTA et al., 2017; SILVA et al., 2015; ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2011).

O fungo pode crescer em meios de cultura seletivos acrescidos de cloranfenicol e cicloheximida, inibidores de bactérias e de certos fungos não patogênicos, respectivamente. Os meios incluem o Ágar Sabouraud Dextrose e Ágar Mycosel, à temperatura de 25°C a 30°C em sua forma filamentosa, com crescimento visível podendo variar de 3 a 5 dias e podendo se estender até quatro semanas (CRUZ, 2013; FREITAS, 2014; MAHAJAN, 2014; OROFINO-COSTA et al., 2017). Para a confirmação do diagnóstico, é necessário determinar se o mesmo sofre dimorfismo *in vitro*, e para isso utiliza-se o meio Ágar Infusão Cérebro-Coração (BHI) à temperatura de 35°C a 37°C para a conversão do fungo à sua forma leveduriforme, (FREITAS, 2014; ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2011).

1.1.6.2 Diagnóstico Histopatológico

O fungo no tecido humano pode ser detectado na forma de leveduras ovaladas ou em forma de charuto, podendo estar livres ou no interior de macrófagos, e a sua frequência de detecção é controversa. Isso se dá pelo fato de o mesmo estar presente, em baixa quantidade, nas lesões, ao contrário da detecção em felinos, nos quais a carga fúngica é elevada. Com isso a sua identificação geralmente é negativa, com sensibilidade baixa. Contudo, infere-se que o

sucesso na sua identificação irá depender da análise dos cortes histológicos seriados (CRUZ, 2013; OROFINO-COSTA et al., 2017; QUINTELLA et al., 2011; SILVA et al., 2015).

O exame histopatológico utilizando um fragmento de tecido fixado em formol é importante para o diagnóstico de esporotricose permitindo a visualização do infiltrado inflamatório por meio da técnica de coloração por hematoxilina e eosina (H-E), utilizada rotineiramente. Além dessa, outras técnicas, como coloração pelo ácido periódico de Schiff (PAS) ou impregnação pela prata, também podem ser utilizadas na identificação de elementos fúngicos (FREITAS, 2014; OROFINO-COSTA et al., 2017; ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2011). O corpo asteroide pode ser observado pelo envolvimento das estruturas fúngicas por material eosinofílico, resultado da interação antígeno-anticorpo, denominada fenômeno de Splendore-Hoepli. Este fenômeno pode apontar para o diagnóstico da esporotricose, contudo, pode ocorrer em outras doenças infecciosas ou granulomatosas (FREITAS, 2014; MAHAJAN, 2014; OROFINO-COSTA et al., 2017; QUINTELLA et al., 2011).

1.1.6.3 Diagnóstico Sorológico

Testes sorológicos são propostos para serem aplicados no diagnóstico de micoses, principalmente as sistêmicas, estendendo-se à esporotricose. O isolamento do fungo pode ser difícil em alguns casos dependendo do local da lesão, como em formas extracutâneas e atípicas. Com isso, são utilizados testes sorológicos, como o ensaio imunoenzimático (ELISA), para o diagnóstico na rotina em determinadas instituições, incluindo monitoramento terapêutico (BERNARDES-ENGEMANN et al., 2005; BERNARDES-ENGEMANN et al., 2015). O ELISA possui uma sensibilidade relatada de 90% e especificidade de 80% (BERNARDES-ENGEMANN et al., 2005). Almeida-Paes et al. (2007) encontraram uma sensibilidade de 97% e especificidade de 89% ao avaliarem soro de 90 pacientes com esporotricose por meio do ELISA, utilizando um exoantígeno isolado da forma filamentosa de *S. schenckii lato sensu*. Porém, algumas limitações podem ser destacadas, como casos de falso-positivo, reações cruzadas com outros agentes infecciosos e o período de incubação do fungo, uma vez que anticorpos ainda não foram produzidos pelo hospedeiro, impedindo a detecção dos mesmos por meio da técnica (MARTÍNEZ-ÁLVAREZ et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2019; OROFINO-COSTA et al., 2017).

1.1.6.4 Diagnóstico Molecular

A identificação das espécies do gênero *Sporothrix* é feita tradicionalmente por meio de análises fenotípicas como macro e micromorfologia e assimilação de açúcares (sacarose e

rafinose). Contudo, suas colônias demoram em torno de 2 a 4 semanas para exibir o dimorfismo e variações intraespecíficas podem ocorrer, tornando inconclusiva a identificação das espécies. A respeito disso, micologistas vinham buscando por novas técnicas que permitissem acelerar esses procedimentos. Métodos moleculares rápidos foram introduzidos no diagnóstico da esporotricose e são de grande importância para o aumento da sensibilidade, especificidade e acurácia (CRUZ, 2013; OLIVEIRA et al., 2012; OROFINO-COSTA et al., 2017; ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2011).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) baseada na amplificação de uma sequência específica de ácido desoxirribonucleico (DNA) é uma excelente ferramenta para a identificação de agentes de micoses. O estudo pioneiro utilizando a metodologia de detecção de DNA para o diagnóstico de infecções fúngicas foi relatado por Sandhu et al. (1995), no qual os autores desenvolveram 21 *primers* específicos com alvo para a grande subunidade do ácido ribonucleico ribossomal (rRNA) de diversos fungos, incluindo *Sporothrix* spp. Os resultados apresentaram um alto nível de especificidade. Diversos estudos taxonômicos moleculares utilizando diferentes metodologias, como o polimorfismo do comprimento do fragmento de restrição (RFLP) de diferentes genes alvos, amplificação randômica de DNA polimórfico (RAPD), sequenciamento do DNA da região de transcrição interna do rRNA (ITS), PCR com alvo nos genes das enzimas topoisomerase II, quitina sintase 1 e outras, polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado (AFLP), e M13 PCR *fingerprinting* demonstraram que isolados de *Sporothrix* spp. apresentavam polimorfismos, sugerindo que poderiam não ser apenas uma espécie (HU et al., 2003; KANO et al., 2001; OLIVEIRA et al., 2014).

Contudo, a diferenciação em espécies ganhou robustez em 2007, quando Marimon et al. propuseram a combinação de características fenotípicas (macroscopia da colônia, microscopia dos conídios, assimilação de sacarose e rafinose, capacidade de crescer a 37°C) e genotípicas (sequenciamento parcial do gene da calmodulina (CAL)), para formar uma chave de identificação no gênero. Dentre diversas técnicas para distinguir as espécies, Rodrigues; Hoog; Camargo (2015), desenvolveram um painel de novos marcadores, com base no gene da CAL, testados em amostras clínicas e de animais infectados em laboratório, diferenciando as espécies de maior interesse clínico, tendo um nível de detecção que variou entre 10-100 fg de DNA de *Sporothrix* spp. Esta técnica mostrou-se rápida, eficiente, sensível e de fácil execução.

1.1.6.5 Diagnóstico Diferencial

A esporotricose possui diversas formas clínicas, podendo ser clinicamente semelhante a outras doenças infecciosas e não infecciosas. Para as formas cutâneas, piodermites, leishmaniose tegumentar americana, paracoccidioidomicose, cromoblastomicose, tuberculose cutânea, sífilis e granuloma anular são diagnósticos diferenciais. Já para as formas extracutâneas, incluem-se conjutivite bacteriana, osteomelites de outras etiologias, tuberculose pulmonar e meníngea e paracoccidioidomicose. O contexto epidemiológico deve ser levado em consideração em regiões de alta endemicidade (ARENAS et al., 2018; OROFINO-COSTA et al., 2017; ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2011). Com relação à anatomia patológica, o relatório de patologia deve incluir um comentário indicando os fungos mais frequentes associados a tal morfologia, bem como outros possíveis fungos e parasitas que devem ser considerados no diagnóstico diferencial. As estruturas leveduriformes de *Sporothrix* spp. devem ser diferenciadas de *Candida* spp., *Histoplasma capsulatum*, *Leishmania* spp., dentre outros. Os corpos de Hamazaki-Wesenberg (estruturas elípticas pigmentadas vistas na sarcoidose) podem ser confundidos com *Sporothrix* spp., além da presença do fenômeno Splendore-Hoepli que é uma característica distintiva importante da esporotricose (GUARNER; BRANDT, 2011).

1.1.7 **Tratamento**

O tratamento da esporotricose é escolhido de acordo com a forma clínica e o estado imunológico do hospedeiro. Os fármacos atualmente disponíveis no Brasil compreendem: solução saturada de iodeto de potássio (SSKI), e os antifúngicos itraconazol, terbinafina e anfotericina B, sendo as três primeiras de uso oral e a última de uso venoso.

No início do século passado, o iodeto de potássio foi a primeira opção terapêutica no tratamento da esporotricose. O seu mecanismo de ação ainda não está totalmente esclarecido apesar do conhecimento de sua ação na resposta imune, desestruturando granulomas, na quimiotaxia de neutrófilos e fagocitose de células de *Sporothrix* spp. Sendo assim, possui grande valor como fármaco de escolha para casos de manifestações cutâneas de hipersensibilidade, como eritema nodoso e síndrome de *Sweet*, devido aos seus efeitos imunomodulatórios. Devido aos efeitos adversos deste medicamento, como intolerância gastrointestinal, sabor amargo ou metálico e erupção acneiforme, compostos azólicos tornaram-se uma alternativa no tratamento da doença (KAUFFMAN et al., 2007; MACEDO et al., 2015; OROFINO-COSTA et al., 2013a; OROFINO-COSTA et al., 2017).

Atualmente, o itraconazol é o fármaco de primeira escolha para o tratamento da esporotricose, devido à sua efetividade e baixo risco. Possui como mecanismo de ação a inibição da síntese de ergosterol, componente essencial e principal esterol presente na membrana plasmática do fungo, interagindo com a enzima 14- α desmetilase. Devido a algumas contraindicações a esse fármaco, como insuficiência cardíaca e gravidez, além de interações medicamentosas, a terbinafina, além de possuir semelhante mecanismo de ação, tendo como alvo a enzima esqualeno-epoxidase, tem sido utilizada como alternativa terapêutica quando o itraconazol não pode ser administrado (FRANCESCONI et al., 2009; KAUFFMAN et al., 2007; NOBRE et al., 2002; OROFINO-COSTA et al., 2017; RYDER, 1992).

Já a anfotericina B possui como mecanismo de ação a alteração da permeabilidade da membrana do fungo, provocando extravasamento dos seus componentes intracelulares e é o fármaco indicado para as formas mais graves da esporotricose. Apesar de possuir efeitos adversos como toxicidade cardíaca e renal, ainda é escolha para o tratamento de gestantes, uma vez que não está associado a um potencial embriotóxico e nem possui risco de efeito teratogênico como SSKI, itraconazol e terbinafina (KAUFFMAN et al., 2007; MAHAJAN, 2014; OROFINO-COSTA et al., 2011; OROFINO-COSTA et al., 2017).

Outras formas de tratamento podem ser empregadas quando os fármacos se tornam contraindicados em alguns casos. A termoterapia com aplicação de calor local (42°C a 43°C) é baseada na termossensibilidade do fungo e é alternativa terapêutica para pacientes com lesões localizadas e com risco para a utilização de fármacos, como por exemplo, gestantes (FERREIRA et al., 2012; KAUFFMAN et al., 2007; OROFINO-COSTA et al., 2011; OROFINO-COSTA et al., 2017). Outro método que se demonstrou eficaz e seguro no manejo terapêutico da esporotricose foi a criocirurgia com nitrogênio líquido. Este recurso pode ser utilizado isoladamente ou como complemento terapêutico em casos nos quais o paciente responde de forma mais lenta ao tratamento com antifúngicos (FERREIRA et al., 2011; FICHMAN et al., 2018; KASUYA et al., 2015; OROFINO-COSTA et al., 2017).

As manifestações cutâneas de hipersensibilidade mais brandas podem ser acompanhadas conservadoramente. Já as apresentações mais sintomáticas e exuberantes, são tratadas com anti-inflamatórios não hormonais ou corticosteroides orais, variando de dose anti-inflamatória a doses imunossupressoras. Outros fármacos imunossupressores e/ou antimicrobianos, como colchicina, ciclosporina, dapsona, clofazimina, etc., também são opções, notadamente em casos recidivantes (VON-DEN-DRIESCH, 1994). Na esporotricose,

além do tratamento específico para a hipersensibilidade, é recomendado o tratamento antifúngico associado, de modo a se eliminar a causa do quadro reacional.

2 JUSTIFICATIVA

Os casos de esporotricose de transmissão zoonótica envolvendo os gatos começaram a aumentar na região metropolitana do Rio de Janeiro a partir de 1998 e, mesmo após mais de 20 anos, vive-se uma situação hiperendêmica ainda sem perspectiva de controle, com a dispersão dos casos pelo estado e um cenário epidemiológico surgindo de forma análoga em diversos estados da federação. O INI-Fiocruz é a principal unidade de referência para diagnóstico e tratamento da esporotricose desde o início da mudança de panorama no estado do Rio de Janeiro. Há grupos de pesquisa com projetos em andamento acerca do tema e expertise acumulada ao longo dos anos. Identificação da variação das apresentações clínicas e suas nuances proporcionaram a descrição de formas atípicas da doença e manifestações de hipersensibilidade.

Desde a descentralização do atendimento dos casos de esporotricose e a instituição da notificação compulsória no estado do Rio de Janeiro, em 2013, o INI-Fiocruz consolidou-se como referência para os casos mais graves e atípicos, com notável aumento no número de pacientes com manifestações de hipersensibilidade. Há uma percepção da equipe clínica de que os pacientes com tais manifestações evoluem de forma mais favorável frente à esporotricose, porém com quadro inflamatório intenso e de manejo delicado. Em trabalhos científicos de outros países, como em relatos de casos clínicos, não há a divulgação da ocorrência de manifestações cutâneas de hipersensibilidade no contexto da esporotricose. Essa escassez de relatos pode ser pela não ocorrência ou pela simples falta de publicação, o que chama a atenção da equipe no INI-Fiocruz.

Em um estudo envolvendo isolados fúngicos de 50 pacientes com diferentes apresentações de esporotricose, estes fungos foram identificados molecularmente, sendo que todos os seis casos com eritema nodoso e os quatro casos com eritema multiforme foram associados à infecção por *S. brasiliensis*. Um estudo mais numeroso, expressivo e explorando a casuística institucional ainda não foi realizado. Novidades em relação à(s) espécie(s) capazes de provocar tais manifestações cutâneas de hipersensibilidade possivelmente podem ser evidenciadas, ou consolidar o que já foi previamente suspeitado e demonstrado. Não há, ainda, relatos destas manifestações em pacientes infectados por outras espécies de *Sporothrix*. Ainda, pode ser que haja diferenças em relação aos aspectos sociodemográficos, epidemiológicos, clínico-evolutivos e tempo de tratamento entre os pacientes com e sem tais manifestações, com relevância estatística.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os casos de esporotricose humana com manifestações cutâneas de reação de hipersensibilidade, atendidos no INI-Fiocruz, entre 2005 e 2018.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Apurar a frequência anual das manifestações cutâneas de hipersensibilidade associadas à esporotricose;
- Descrever os aspectos sociodemográficos, epidemiológicos e clínico-evolutivos;
- Identificar os tipos de manifestação cutânea (eritema nodoso, eritema multiforme e síndrome de *Sweet*);
- Avaliar as variáveis com possível associação com a ocorrência destas manifestações;
- Verificar diferenças sociodemográficas, epidemiológicas e clínico-evolutivas em relação aos pacientes com e sem tais manifestações;
- Caracterizar a(s) espécie(s) de *Sporothrix* obtida(s) das lesões desses pacientes.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo transversal, retrospectivo e observacional, por análise de prontuários de pacientes e estudo de isolados fúngicos armazenados.

4.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Pacientes humanos registrados no Sistema de Prontuário Eletrônico do Paciente do INI (Sippec) com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade. Uma pesquisa no Sippec foi realizada, utilizando-se os critérios: diagnóstico confirmado de esporotricose (cadastro de CID10: B42) e ao menos um dos descritores na evolução médica - “hipersensibilidade”, “multiforme”, “reação”, “polimorfo”, “nodoso” ou “*Sweet*”. Foi feita uma revisão dos prontuários incluídos na lista gerada, com verificação e classificação final das manifestações de hipersensibilidade diagnosticadas durante as consultas clínicas, para obtenção da lista definitiva de pacientes.

4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos todos os pacientes atendidos no INI-Fiocruz, de 2005 a 2018, com diagnóstico de esporotricose confirmado por cultura positiva para *Sporothrix* spp. e documentação em prontuário de manifestação cutânea de hipersensibilidade atribuída à esporotricose. Os registros do Laboratório de Micologia do INI foram consultados para encontrar os isolados fúngicos de cada paciente incluído no critério clínico. Para análise molecular, foram incluídos os isolados fúngicos destes pacientes que estavam preservados no setor de Diagnóstico Micológico do Laboratório de Micologia do INI. Foram excluídos os registros incompletos de pacientes que não permitiam a identificação das características clínicas mínimas e necessárias.

4.4 ISOLADOS CLÍNICOS

Os isolados foram coletados no momento da investigação diagnóstica. Alguns estavam armazenados em freezer em glicerol a -20°C e outros na geladeira a 4°C no acervo do Laboratório de Micologia - Setor Diagnóstico Micológico, do INI. A recuperação dos isolados armazenados a -20°C se deu por meio da técnica de semeadura em tubos de ensaio (12x150mm) contendo meio Ágar Batata Dextrose (PDA) (Difco, Becton-Dickinson and Company, USA) e Ágar Mycosel (Difco, Becton-Dickinson and Company, USA), e

incubados a 30°C durante sete dias. Com relação à recuperação dos isolados armazenados a 4°C, por serem amostras mais antigas e por motivos adversos, as mesmas encontraram-se ressecadas, sendo necessária a recuperação em meio BHI líquido (Difco, Becton-Dickinson and Company, USA), em agitação constante de 150 rpm por 7 dias em incubadora tipo *shaker* (Solab, SL 222) a 37°C. As amostras que apresentaram crescimento foram então semeadas em tubos de ensaio (12x150mm) contendo meio PDA e incubadas a 30°C por sete dias.

4.5 IDENTIFICAÇÃO GENOTÍPICA DE ISOLADOS

4.5.1 Extração de DNA

A técnica convencional para a extração do DNA foi realizada com o fungo na fase filamentosa, de acordo com o protocolo desenvolvido por Muniz et al. (2010) com modificações. A extração seguiu o protocolo descrito abaixo:

Foi realizada uma lise mecânica de uma massa de células, obtida do fungo cultivado em meio PDA em fase filamentosa, por sete dias, equivalente a 500 µL, em microtubo de 1,5 mL, com o auxílio de nitrogênio líquido e 500µL de tampão de lise TES (Tris (40 mM) EDTA (1 mM) Sorbitol (20 mM)). Essa mistura foi aquecida a 65°C em banho seco (Bioendo Technology Co., Ltd) por cinco minutos e logo em seguida incubada no gelo por cinco minutos. Após essas etapas foram adicionados 500µL de Fenol - Clorofórmio - Álcool Isoamílico (25:24:1) (Fluka Analytical, Sigma-Aldrich, St Louis, USA) e essa mistura foi homogeneizada por 30 segundos utilizando vórtex (Biomixer, modelo VTX-2500) e centrifugada na velocidade de 14.000 rpm (Eppendorf, modelo 5430R) por cinco minutos, por três vezes, utilizando o sobrenadante, a fim de precipitar as proteínas. Após a coleta do sobrenadante, foi adicionado 1/10 do volume recuperado, de acetato de sódio 3 M, adicionado 2,5 vezes o volume total recuperado de álcool etílico absoluto. Novamente, essa mistura foi homogeneizada por 30 segundos e centrifugada a 14.000 rpm por 15 minutos. Posteriormente à precipitação, o DNA foi lavado com álcool etílico 70% por cinco minutos e o sobrenadante descartado. Após a secagem do *pellet* em microcentrífuga à vácuo (Micro VacTM, modelo MV-100), o DNA foi então hidratado com 50 µL de água deionizada, quantificado por espectrofotometria (NanoVue Plus, modelo GE Healthcare) e estocado a -20°C.

4.5.2 Utilização de marcadores moleculares específicos para a identificação de espécies

Baseado nas sequências gênicas da CAL, foram utilizados *primers* espécie-específicos: Sbra-F (5' CCC CCG TTT GAC GCT TGG 3') e Sbra-R (5' CCC GGA TAA

CCG TGT GTC ATA AT 3’); Ssch-F (5’ TTT CGA ATG CGT TCG GCT GG 3’) e Ssch-R (5’ CTC CAG ATC ACC GTG TCA 3’) e Sglo-F (5’ CGC CTA GGC CAG ATC ACC ACT AAG 3’) e Sglo-R (5’ CCA ATG TCT ACC CGT GCT 3’), desenvolvidos por Rodrigues; Hoog; Camargo (2015). A PCR foi realizada no volume final de 25 µL, incluindo Buffer 1X PCR (Invitrogen, Brasil), 3 mM MgCl₂ (Invitrogen, Brasil), 0,4 mM de cada dinucleotídeo (dNTPs) (Invitrogen, Inc.), 50U/mL *Taq Polymerase* (Biotools B&M Labs, S.A.), 10 pmol/µL de cada *primer* (*forward* e *reverse*), 100 ng/µL de DNA. No presente estudo, foram utilizadas como controle as cepas *S. brasiliensis* (IPEC 16490), *S. schenckii* (IPEC 36275) e *S. globosa* (IPEC 27135), previamente identificadas no INI-Fiocruz, para a identificação molecular com *primers* espécie-específicos.

A reação foi realizada em termociclador (Applied Biosystems SimpliAmp Thermal Cycler, Thermo Fisher) com desnaturação inicial a 95°C por cinco minutos; seguidos de 35 ciclos de desnaturação a 95°C por um minuto, temperatura de anelamento a 70°C no primeiro ciclo com subsequente redução da temperatura de 1°C a cada dois ciclos, temperatura final de anelamento a 60°C pelos últimos 15 ciclos, extensão a 72°C por um minuto e extensão final a 72°C por 10 minutos. A amplificação foi confirmada pela visualização dos *amplicons* após a eletroforese em gel de agarose a 1,0% (Agarose Ultra-Pure, InvitrogenTM) em TBE 0,5X (Tris 0,1 M, ácido bórico 0,09 M, EDTA 0,001 M, pH 8,4). Foram adicionados 4 µL do produto da PCR em cada poço do gel e peso molecular 1 Kb *Plus DNA Ladder* (InvitrogenTM). A eletroforese foi conduzida a 90V por 1 hora e 10 minutos. No processo de preparação, o gel foi corado com 1 µL de brometo de etídio (0,5 µg/mL) antes de ser visualizado em luz ultravioleta (UV) em transiluminador (Labnet International, Inc).

4.6 PLANO DE ANÁLISE

Depois da obtenção das variáveis (idade, sexo, ocupação, município de residência, bairro de residência, forma provável de transmissão, forma clínica da esporotricose, sítio anatômico da esporotricose, comorbidades, tipo de manifestação cutânea de hipersensibilidade, tipo de tratamento, tempo de tratamento e espécie de *Sporothrix* identificada), os dados foram armazenados em um banco de dados (Excel) e analisados. A variável ocupação foi agrupada de acordo com a Classificação Brasileira de Ocupações (CBO) de 2002 (MINISTÉRIO DO TRABALHO, 2002), que divide as ocupações em 10 grandes grupos. Um banco de dados do Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatologia Infecciosa, com pacientes com esporotricose confirmada pelos mesmos critérios do banco do presente estudo, porém sem manifestação de hipersensibilidade, foi utilizado como controle

para análises comparativas das variáveis possivelmente associadas ao desfecho Hipersensibilidade. Dos 804 registros de pacientes contidos no referido banco, foram excluídos os 82 casos de pacientes com manifestações de hipersensibilidade e utilizados registros de 722 pacientes atendidos entre 2005 e 2008 no INI-Fiocruz, portanto, concomitante com parte dos casos incluídos no presente estudo e com publicação em forma de dissertação e artigo científico (FREITAS, 2009; FREITAS et al., 2010).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise exploratória dos dados foi realizada com frequências absolutas e relativas para variáveis qualitativas e medidas-resumo (mediana e quartis) para as variáveis quantitativas. A comparação entre as variáveis qualitativas segundo o desfecho (Hipersensibilidade e Tipos de Hipersensibilidade) foi realizada pelo teste Qui-quadrado de Pearson (ou Exato de Fisher, quando necessário), ou com teste de diferença de proporção para duas amostras (quando selecionada uma categoria avulsa). Foi utilizada também a razão de chance (OR), como medida de associação. A comparação entre as variáveis quantitativas segundo o desfecho (Hipersensibilidade e Tipos de Hipersensibilidade) foi realizada por meio do teste de Wilcoxon (duas amostras independentes) ou Kruskal-Wallis. Os testes utilizaram o nível de significância de 5% como referência ($p < 0,05$), e as análises descritivas foram conduzidas usando o software estatístico R versão 3.5.1.

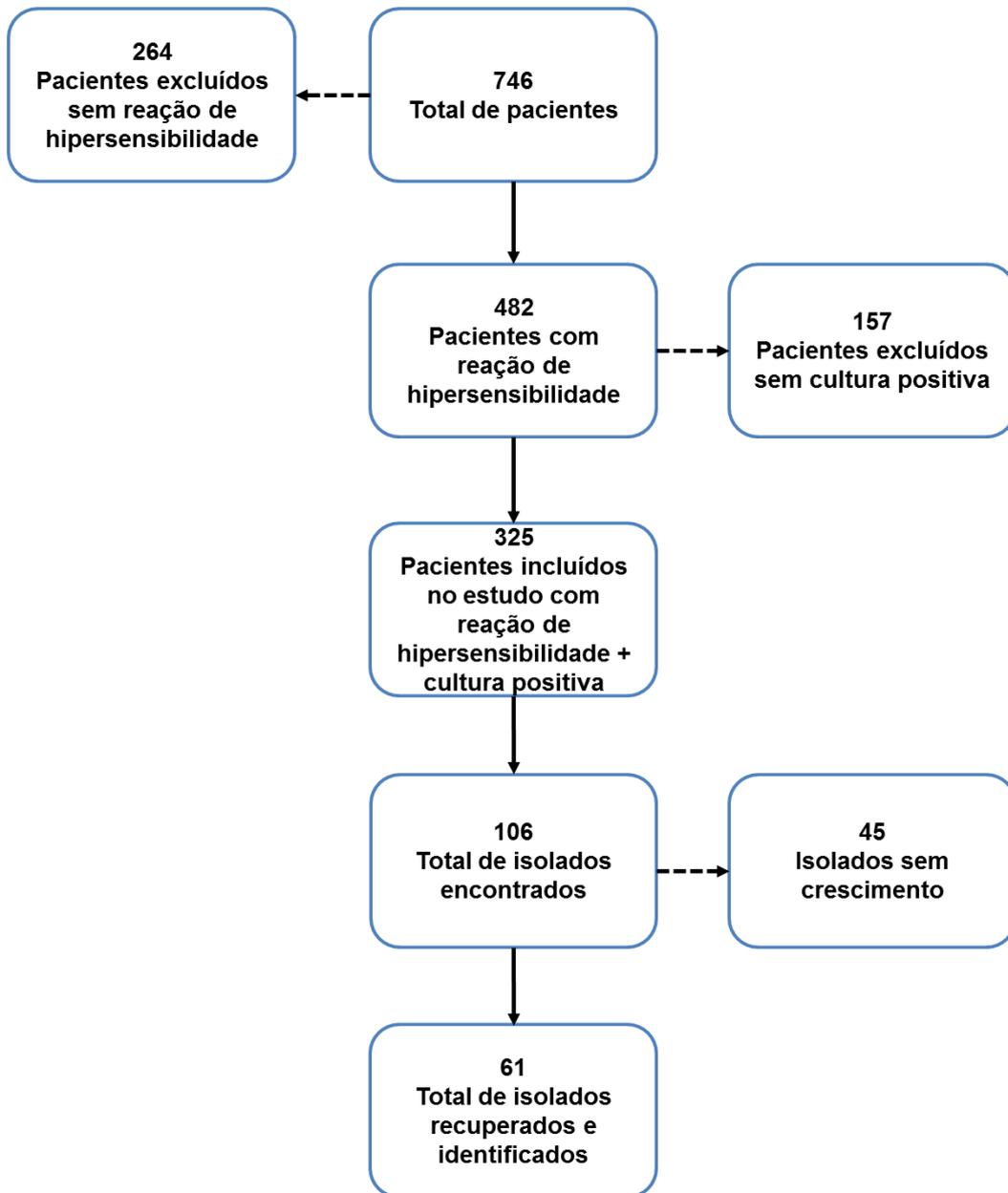
4.8 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi cadastrado na Plataforma Brasil, e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do INI (CAAE 03955818.8.0000.5262) (**Anexo A**). Foi assinado um Termo de Compromisso e Responsabilidade (**Anexo B**) por parte do pesquisador responsável, visando documentar a garantia de sigilo e confidencialidade dos dados dos participantes na pesquisa. Para os casos analisados em que não houve sucesso no contato com os pacientes, um pedido dispensa de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**Anexo C**) foi elaborado e chancelado pelo CEP. Para os pacientes contatáveis, um TCLE (**Anexo D**) foi apresentado, para obtenção de consentimento por escrito, por meio de leitura e assinatura em cada caso, em duas vias.

5 RESULTADOS

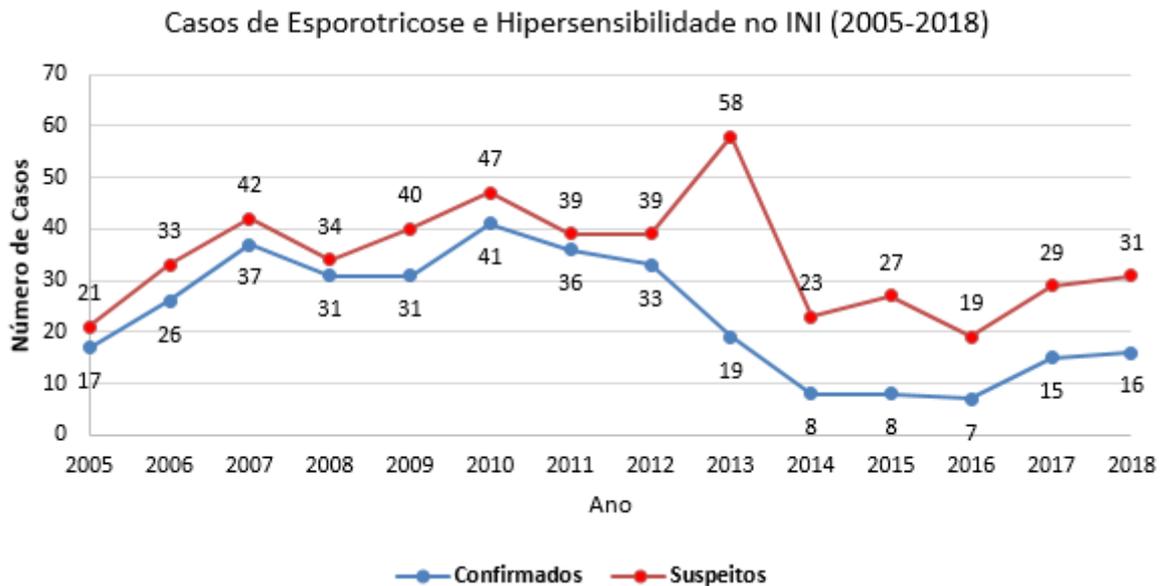
No período do estudo (2005-18), segundo o Serviço de Informações Estatísticas do INI, foram atendidos 3.964 pacientes com esporotricose neste instituto. Em uma lista inicial, gerada pela busca ao Sipec, com base nos descritores citados anteriormente, foram encontrados 746 pacientes atendidos no INI, no período de 2005 a 2018, com cadastro de diagnóstico de esporotricose. Com a verificação de cada registro, 264 (35,4%) pacientes foram excluídos do estudo por não apresentarem manifestações cutâneas de hipersensibilidade ou por terem sido erroneamente cadastrados como esporotricose. Dos 482 (64,6%) pacientes com tais manifestações confirmadas, 157 (32,6%) foram excluídos por não apresentarem diagnóstico de esporotricose confirmado por cultura. Com isso, os 325 (67,4%) pacientes restantes foram incluídos no estudo, apresentando hipersensibilidade e cultura positiva para esporotricose, o que representa 8,2% dos casos institucionais de esporotricose neste período. Destes 325, 61 (18,8%) tinham isolados de *Sporothrix* spp. viáveis, que foram recuperados e identificados molecularmente (**Figura 5**).

Figura 5: Fluxograma da busca e análise de dados obtidos.



Observou-se uma mediana de 22,5 casos por ano. No período de 2007 a 2012, observou-se uma maior concentração de casos, em um total de 209 pacientes (64,3%) (**Figura 6**). A mediana em relação à confirmação micológica até o ano de 2012 foi de 86%, variando de 77,5% a 92,3%. Já a partir de 2013, foi de 36%, com variação de 29,6% a 51,7%.

Figura 6: Número de casos de esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade diagnosticados anualmente (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).

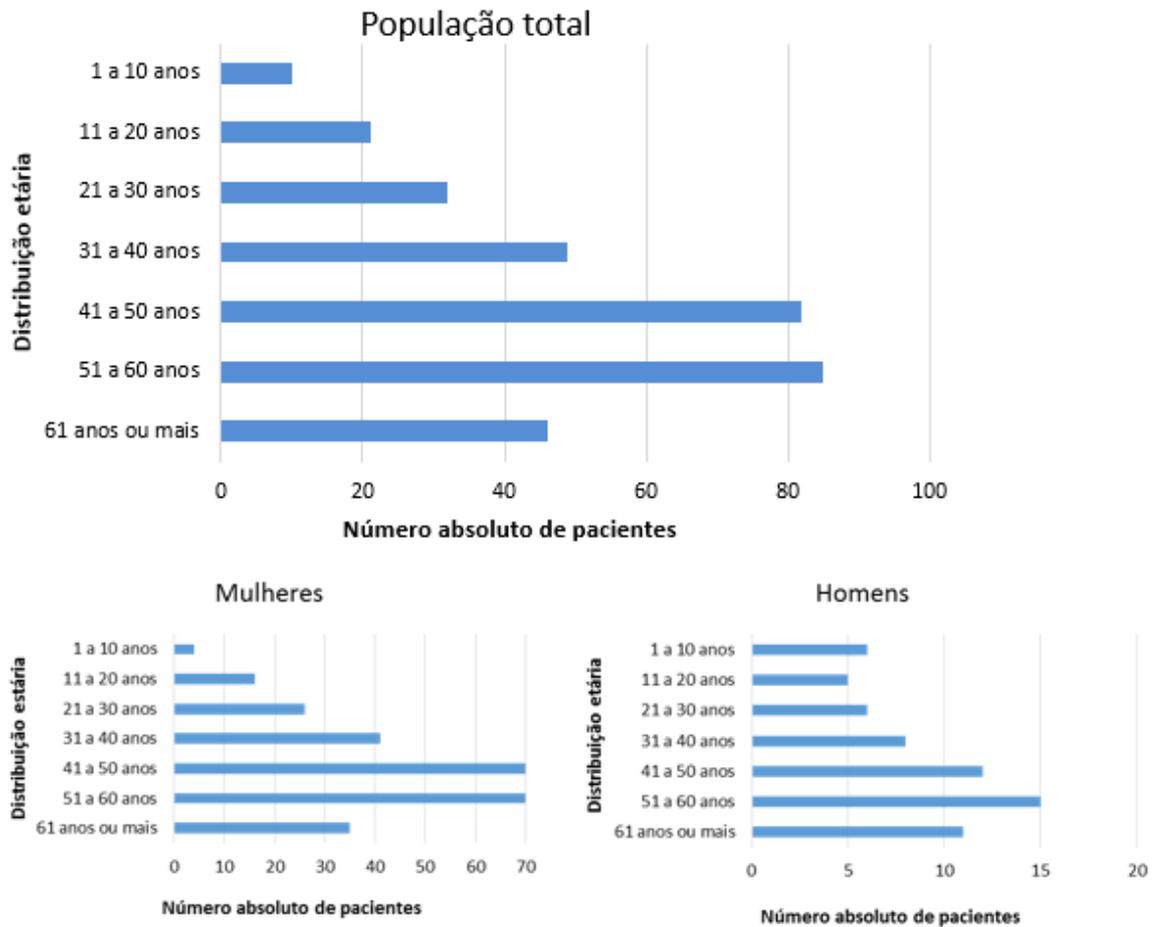


Legenda: Confirmados - casos de esporotricose e manifestação cutânea de hipersensibilidade confirmados por cultura (n = 325), suspeitos - total de casos compatíveis clinicamente com esporotricose e manifestação cutânea de hipersensibilidade (n = 482).

5.1 DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS

Dos 325 pacientes analisados, a idade mediana foi de 46 anos (variação de 2 a 90 anos) e desvio-padrão de 16,4, tendo uma maior concentração de casos entre a 5ª e 6ª década de vida (41 a 60 anos). Houve 262 (80,6%) pacientes do sexo feminino e 63 (19,4%) do sexo masculino. Quando analisados os sexos separadamente, observa-se semelhança na concentração de casos, mantendo-se o predomínio entre a 5ª e 6ª década de vida em ambos os sexos. Nos pacientes do sexo masculino, porém, chama atenção a grande frequência de casos na primeira década de vida (1 a 10 anos), quando comparado às mulheres, além de um pico isolado de casos na 6ª década de vida (51 a 60 anos) (**Figura 7**).

Figura 7: Distribuição por faixa etária dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).



Legenda: População total: n = 325, casos em mulheres: n = 262, casos em homens: n = 63.

O Rio de Janeiro foi o município com maior número de casos, com um total de 156 (48%) pacientes, seguido por Duque de Caxias, com 44 (13,5%) e Nova Iguaçu, com 31 (9,5%), todos na região metropolitana do Rio de Janeiro (**Tabela 1; Apêndice A**). Considerando apenas os bairros do município do Rio de Janeiro, 82 (52,6%) casos concentraram-se na zona norte (destaque para Brás de Pina, Maré e Ramos), 70 (44,9%) na zona oeste (destaque para Bangu, Campo Grande e Santa Cruz), dois casos (1,3%) na zona sul (Ipanema e Rocinha) e um caso (0,6%) na zona central (Cidade Nova). Apenas um bairro (0,6%) foi dado como indeterminado, devido à falta de informação no momento da coleta de dados dos prontuários dos pacientes (**Apêndice B**).

Tabela 1: Município de residência dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade no estado do Rio de Janeiro (INI/Fiocruz – 2005 a 2018).

Município	Frequência	%
Rio de Janeiro	156	48
Duque de Caxias	44	13,5
Nova Iguaçu	31	9,5
São João de Meriti	27	8,3
Belford Roxo	22	6,8
São Gonçalo	8	2,5
Mesquita	6	1,8
Magé	6	1,8
Nilópolis	5	1,5
Queimados	4	1,2
Outros ¹	16	4,9
Total	325	100

1: Somatório dos municípios com menos de 1% de frequência. Os números em detalhe podem ser vistos no **Apêndice A**.

Quanto à ocupação, os indivíduos foram agrupados da seguinte forma: 66 (20,3%) trabalhadores dos serviços, vendedores do comércio em lojas e mercados; 24 (7,4%) trabalhadores da produção de bens e serviços industriais; 23 (7,1%) profissionais das ciências e das artes; 16 (4,9%) técnico de nível médio; 14 (4,3%) trabalhadores de serviços administrativos; 13 (4%) membros superiores do poder público, dirigentes de organizações de interesse público e de empresas e gerentes; 2 (0,6%) forças armadas, policiais e bombeiros militares; 2 (0,6%) trabalhadores de manutenção e reparação. Em 31 (9,5%) casos não havia informação preenchida e 134 (41,2%) indivíduos estavam fora do mercado de trabalho (desempregado, aposentado, do lar, pensionista, estudante ou menor de idade).

5.2 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

De acordo com o relato dos pacientes, documentado nos prontuários, os gatos doentes estiveram envolvidos em 261 (80,3%) casos na transmissão da doença e apenas 33 (10,1%) casos estavam relacionados ao contato com gatos aparentemente hígidos. Contato com planta, cachorro e picada de inseto, foram outras formas referidas de possível evento associado ao aparecimento das lesões (**Tabela 2**).

Tabela 2: Possível forma de contágio dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).

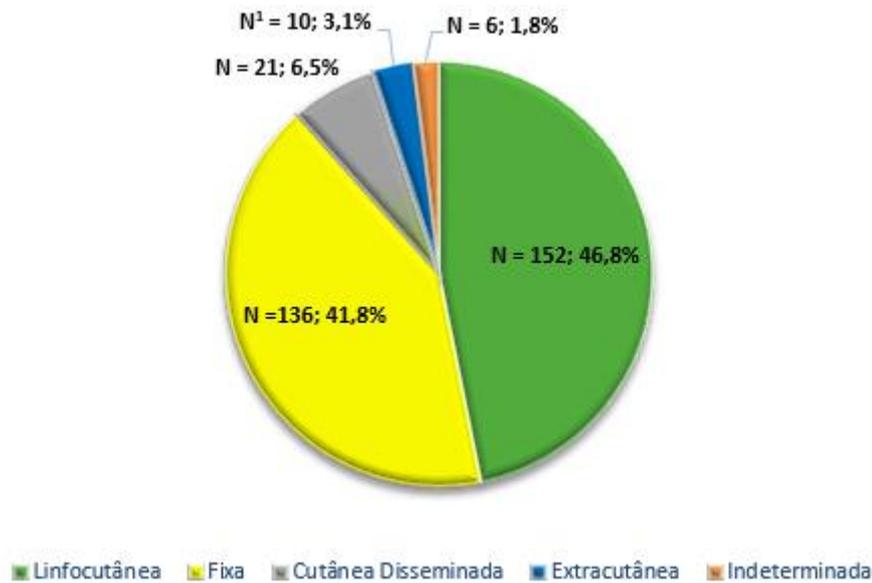
Forma de contágio	Frequência	%
Gato doente	258	79,4
Gato saudável	32	9,8
Gato doente + planta	2	0,6
Cachorro doente	2	0,6
Cachorro saudável	2	0,6
Gato saudável + planta	1	0,3
Gato doente + cachorro doente	1	0,3
Solo + planta	1	0,3
Sem história epidemiológica	26	8
Total	325	100

5.3 DADOS CLÍNICO-EVOLUTIVOS

Com relação às formas clínicas apresentadas, a forma linfocutânea foi predominante, representando 152 (46,8%) casos. Em 6 (1,8%) casos, a forma clínica foi considerada indeterminada, devido à falta de dados nos prontuários dos pacientes (**Figura 8**). Na forma cutânea disseminada, dentre os 21 casos analisados, 9 pacientes referiram múltiplas inoculações, diferentemente dos outros 12, para os quais este evento não estava claramente documentado. Oito desses pacientes não referiam comorbidades que pudessem ajudar a entender essa forma de apresentação (**Apêndice C**). Na forma extracutânea os locais de acometimento incluíram o olho e a mucosa nasal.

Considerando a localização das lesões de esporotricose, estas ocorreram nos membros superiores em 217 casos (66,8%), isoladamente ou associado a outros segmentos corporais, seguido por 88 (27,1%) casos de acometimento dos membros inferiores e 24 (7,4%) casos na face (**Tabela 3**). Na forma linfocutânea e fixa foi possível observar a predominância dos membros superiores; na cutânea disseminada, membro superior mais membro inferior e membros superiores; já na extracutânea, a face (**Apêndice D**).

Figura 8: Formas clínicas apresentadas pelos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).



Legenda: Número absoluto e percentual das formas clínicas da esporotricose. ¹Forma extracutânea - ocular, mucosa nasal e linfocutânea + ocular.

Tabela 3: Localização das lesões de esporotricose nos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz – 2005 a 2018).

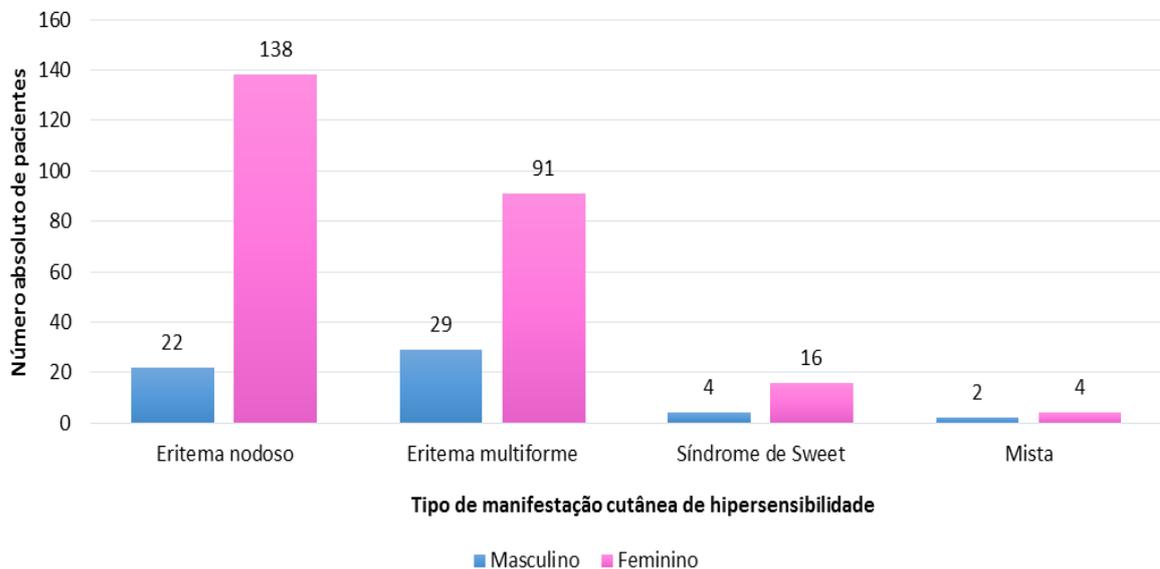
Local das lesões	Frequência	%
MS	200	61,5
MI	77	23,7
Face	20	6,2
MS + MI	6	1,8
MMSS	6	1,8
Tronco	4	1,2
MS + tronco	3	0,9
MMII	2	0,6
MI + face	2	0,6
Pescoço	2	0,6
MS + face	1	0,3
MS + MI + face	1	0,3
Glúteo	1	0,3
Total	325	100

Legenda: MS - membro superior, MI - membro inferior, MMSS – membros superiores, MMII – membros inferiores.

Quanto aos tipos de hipersensibilidade, um total de 160 (49,2%) pacientes apresentaram EN, sendo 138/160 (86,2%) mulheres e 22/160 (13,8%) homens. Com relação ao EM, um total de 120 (36,9%) pacientes apresentaram este tipo de manifestação, também com predominância do sexo feminino, com 91/120 (75,8%) casos e apenas 29/120 (24,2%) casos no sexo masculino. Já a SS esteve presente em um total de 20 (6,2%) pacientes, sendo

16/20 (80%) mulheres e 4/20 (20%) homens. Seis (1,8%) pacientes apresentaram mais de um tipo de hipersensibilidade. Ambos os tipos de eritema (EN + EM) foram observados em 3/6 (50%) pacientes do sexo feminino e em 2/6 (33,3%) do sexo masculino. Já a SS e o EM estiveram presentes em 1/6 (16,7%) paciente do sexo feminino (**Figura 9**). Para 19 (5,8%) pacientes, a hipersensibilidade foi considerada indeterminada, devido à falta de dado conclusivo. Não foi encontrado nenhum caso grave de EM. Não foram documentados casos de NET ou de SSJ.

Figura 9: Distribuição por sexo, do tipo de manifestação cutânea de hipersensibilidade nos pacientes com esporotricose (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).



Legenda: N = 306 (não foram considerados os pacientes com manifestação indeterminada).

Quanto à idade dos pacientes em relação às manifestações cutâneas de hipersensibilidade, aqueles com eritema multiforme apresentaram a maior idade mediana (52 anos), seguido da mediana dos pacientes com síndrome de *Sweet* (49,5 anos), formas mistas de manifestações (47 anos) e eritema nodoso (42 anos).

Dos 325 pacientes, 91 (28%) relataram comorbidades, alguns apresentando mais de uma, totalizando 130 ocorrências de comorbidades. As mais frequentes foram hipertensão arterial sistêmica com 57/130 casos (43,8%) e diabetes mellitus com 16/130 casos (12,3%), com outras aparecendo em menor quantidade (**Tabela 4**). Para 15 (4,6%) pacientes, as comorbidades foram consideradas indeterminadas, devido à falta de dados no momento da revisão dos prontuários dos pacientes.

Tabela 4: Comorbidades relatadas pelos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).

Comorbidades	Frequência	%
Hipertensão arterial sistêmica	57	43,8
Diabetes mellitus	16	12,3
Dislipidemia	7	5,4
HIV/aids	6	4,6
Hipotireoidismo	6	4,6
Gastrite	5	3,8
Asma	4	3,1
Artrose	2	1,5
Cardiopatía	2	1,5
Hepatite por HCV	2	1,5
Sequela de AVE	2	1,5
Etilismo	2	1,5
Outras	19	14,6
Total	130¹	100

Legenda: ¹Alguns pacientes apresentaram mais de uma comorbidade; HIV: vírus da imunodeficiência humana; aids: síndrome da imunodeficiência adquirida; HCV: vírus da hepatite C; AVE: acidente vascular encefálico.

Dos 325 pacientes, 39 (12%) pacientes abandonaram o tratamento e uma (0,3%) paciente ainda estava em fase de tratamento quando foi finalizada a revisão dos prontuários. Considerando-se o tratamento completo, houve cura de 285 (87,7%) pacientes, sendo 273 (95,8%) após o tratamento com fármacos, 11 (3,9%) por cura espontânea e um (0,4%) por termoterapia com calor local. Os principais tipos de tratamento incluíram: itraconazol 100 mg/dia, terbinafina 250 mg/dia e itraconazol 200 mg/dia, com duração mediana de tratamento de 12,3, 12,9 e 13 semanas, respectivamente (**Tabela 5**). Não foi possível calcular a mediana em relação ao tempo dos demais fármacos associados, devido à utilização destes por apenas um paciente.

Tabela 5: Tipos de tratamento realizados e responsáveis pela cura clínica dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).

Tratamento	Frequência (%)	Tempo (semanas)
ITC 100 mg/d	203 (74,4)	12,3
TRB 250 mg/d	28 (10,3)	12,9
ITC 200 mg/d	11 (4)	13
ITC 100 mg/d + 200 mg/d	7 (2,6)	15,7
ITC 200 mg/d + ITC 100 mg/d	6 (2,2)	14,2
ITC 100 mg/d + TRB 250 mg/d	4 (1,5)	16,9
ITC 100 mg/d + 200 mg/d + 100 mg/d	2 (0,7)	23,3
Outros	12 (4,4)	-
Total	273 (100)	

Legenda: ITC – itraconazol; TRB – terbinafina. mg/d - miligramas por dia.

Dentre os pacientes que atingiram cura por tratamento, observou-se uma duração mediana de tratamento de 12,9 semanas tanto para o EM (N = 103), quanto para o EN (N =

129), enquanto que para a SS, a mediana foi de 10,1 semanas (N = 19), para as manifestações mistas, 14,7 semanas (N = 4) e para as indeterminadas, 11,7 semanas (N = 19).

5.4 ANÁLISES DE ASSOCIAÇÕES

Com o objetivo de se encontrar variáveis com possível associação em relação ao desfecho hipersensibilidade, o banco com dados de 722 pacientes atendidos no Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatologia Infecciosa, entre 2005 e 2008 no INI-Fiocruz, com esporotricose e sem hipersensibilidade, foi utilizado como controle para análises comparativas. Observou-se que há uma diferença significativa entre os grupos, com relação à variável sexo ($p < 0,001$), evidenciando-se uma maior chance de encontrarmos uma pessoa do sexo feminino dentre os pacientes com manifestações cutâneas de hipersensibilidade (OR = 2,11; IC 95% [1,539; 2,892]), quando comparado ao grupo de pacientes com esporotricose, mas sem tais manifestações (**Tabela 6**). Ao se analisar cada hipersensibilidade, a mais consistente razão de chances para esta variável foi observada para o EN (OR = 3,182; IC 95% [1,978; 5,121]), enquanto EM teve uma associação mais fraca (OR = 1,592; IC 95% [1,02; 2,485]) e a SS não apresentou uma razão de chances com poder estatístico (OR = 2,029; IC 95% [0,671; 6,136]). A história epidemiológica também se demonstrou estatisticamente diferente entre os grupos ($p < 0,001$), bem como a forma clínica ($p < 0,001$). As associações analisadas podem ser vistas na **tabela 6**.

Tabela 6: Comparação entre o grupo de pacientes com esporotricose (INI/Fiocruz - 2005 a 2008) e o grupo de pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).

Variáveis	Hipersensibilidade		p-valor
	Não	Sim	
Total	722	325	
Sexo - n (%)			< 0,001
Feminino	479 (66,3)	262 (80,6)	
Masculino	243 (33,7)	63 (19,4)	
Idade (anos)			0,107
Mediana (IQ)	44 (27; 57)	46 (34; 55)	
História Epidemiológica - n (%)			< 0,001
Gato Doente ¹	619 (85,7)	261 (80,3)	
Gato Saudável	34 (4,7)	33 (10,2)	
Planta	18 (2,5)	0 (0)	
Cachorro Saudável	6 (0,8)	2 (0,6)	
Cachorro Doente	0 (0)	2 (0,6)	
Outros	45 (6,2)	27 (8,3)	
Forma Clínica - n (%)			< 0,001
Linfocutânea	480 (66,5)	152 (49,2)	
Fixa ²	179 (24,8)	136 (44)	
Cutânea Disseminada	51 (7,1)	21 (6,8)	
Disseminada	10 (1,4)	0 (0)	
Ocular	2 (0,3)	0 (0)	
Tempo de Tratamento (semanas)			0,105
Mediana (IQ)	12 (8; 16)	12,9 (8,6; 17,1)	
Desfecho - n (%)			0,167
Cura	643 (89,1)	285 (87,7)	
Abandono	67 (9,3)	39 (12)	
Em tratamento	10 (1,4)	1 (0,3)	
Óbito	2 (0,3)	0 (0)	

Legenda: ¹teste de 2 amostras para igualdade de proporções, $p=0,0334$; ²teste de 2 amostras para igualdade de proporções, $p<0,01$; IQ: intervalo interquartil.

A fim de se demonstrar possíveis diferenças entre os tipos de hipersensibilidade, foi feita uma análise comparativa entre elas. A variável sexo apresentou diferença estatística ($p=0,047$) e, quando observada, pode-se depreender que o EN foi o tipo com maior proporção de pacientes do sexo feminino ($p<0,01$), portanto o provável responsável por esta significância. Também, a idade apresentou diferença estatística entre os grupos ($p<0,01$), com

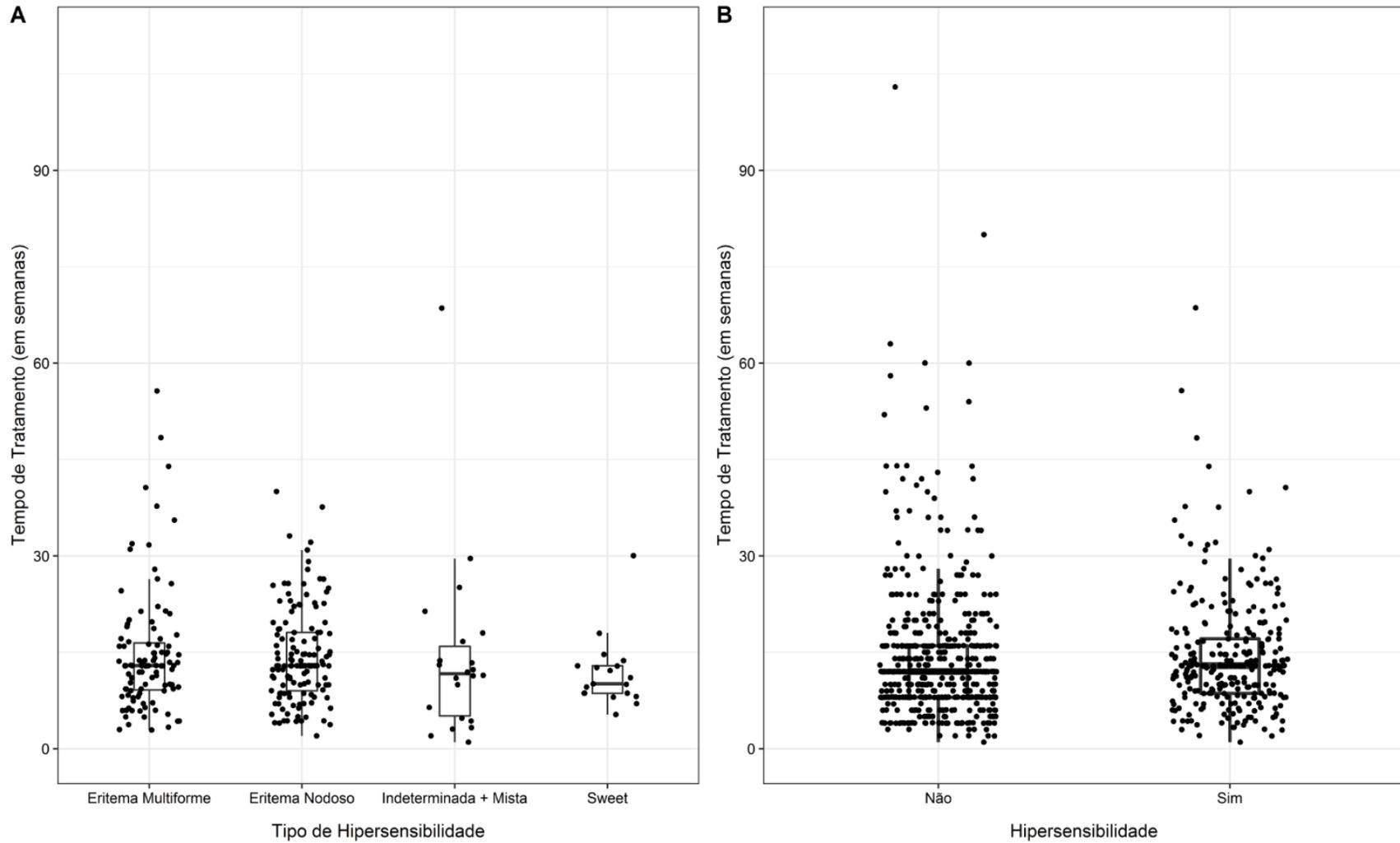
destaque para a mediana mais baixa nos pacientes com EN (42 anos). Quanto à forma clínica, houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0,001$) (**Tabela 7**). Quanto ao tempo de tratamento, avaliando cada manifestação de hipersensibilidade individualmente, apenas o EN apresentou significância estatística ($p = 0,03622$) comparado ao grupo de pacientes sem manifestações de hipersensibilidade (12,9 semanas para EN *versus* 12,0 semanas para grupo controle). A distribuição de casos quanto ao tempo de tratamento em cada grupo pode ser visualizada na **figura 10**.

Tabela 7: Comparação entre os diferentes tipos de manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).

Variáveis	Tipo de Hipersensibilidade Indeterminada				p-valor
	EM	EN	+ Mista	SS	
Total	120	160	25	20	
Sexo - n (%)					0,047
Feminino	91 (75,8)	138 (86,2)	17 (68)	16 (80)	
Masculino	29 (24,2)	22 (13,8)	8 (32)	4 (20)	
Idade (anos)					<0,01
Mediana (IQ)	52 (42; 59)	42 (26; 52)	47 (37; 52)	49,5 (41,8; 53,5)	
Forma Clínica - n (%)¹					< 0,001
Linfocutânea	55 (49,1)	86 (55,8)	8 (34,8)	3 (15)	
Fixa	55 (49,1)	57 (37)	10 (43,5)	14 (70)	
Cutânea Disseminada	2 (1,8)	11 (7,1)	5 (21,7)	3 (15)	
Tempo de Tratamento (semanas)²					0,258
Mediana (IQ)	12,9 (9,2; 16,5)	12,9 (9; 18,1)	11,7 (5,1; 15,9)	10,1 (8,6; 12,9)	
Desfecho - n (%)					0,561
Cura	107 (89,2)	136 (85)	23 (92)	19 (95)	
Abandono	13 (10,8)	23 (14,4)	2 (8)	1 (5)	
Em tratamento	0 (0)	1 (0,6)	0 (0)	0 (0)	

Legenda: ¹Calculado excluindo-se os 10 pacientes com forma extracutânea e os 6 pacientes com forma clínica indeterminada; ²Calculado para os pacientes que fizeram tratamento até a cura; EM: Eritema multiforme; EN: Eritema nodoso; SS: Síndrome de *Sweet*; IQ: intervalo interquartil.

Figura 10: Tempo de tratamento entre os tipos de manifestação de hipersensibilidade e entre pacientes com (INI/Fiocruz - 2005 a 2018) e sem (INI/Fiocruz - 2005 a 2008) tais manifestações na esporotricose.

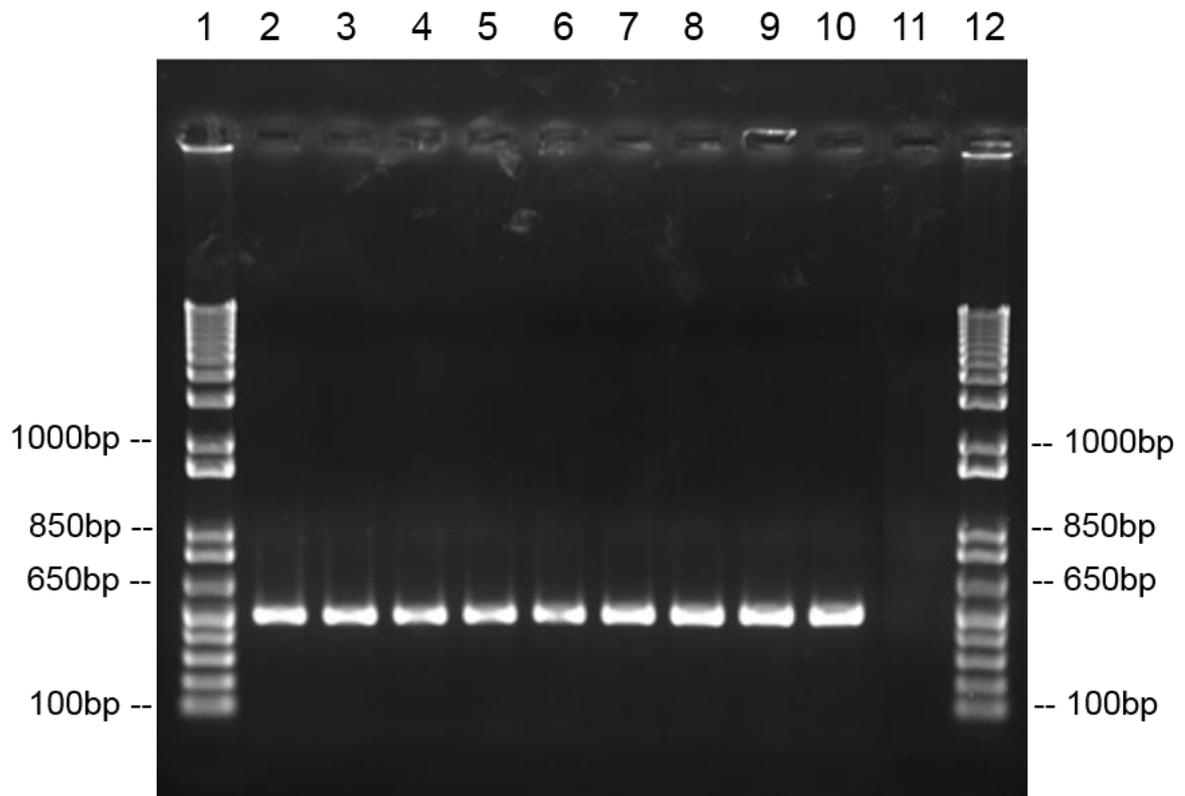


Legenda: A: eritema multiforme (n = 103), eritema nodoso (n = 129), indeterminada e mista agrupadas (n = 22), *Sweet* (n = 19). Total: n = 273 (pacientes que trataram até curar). B: não (n = 563); sim (n = 273).

5.5 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

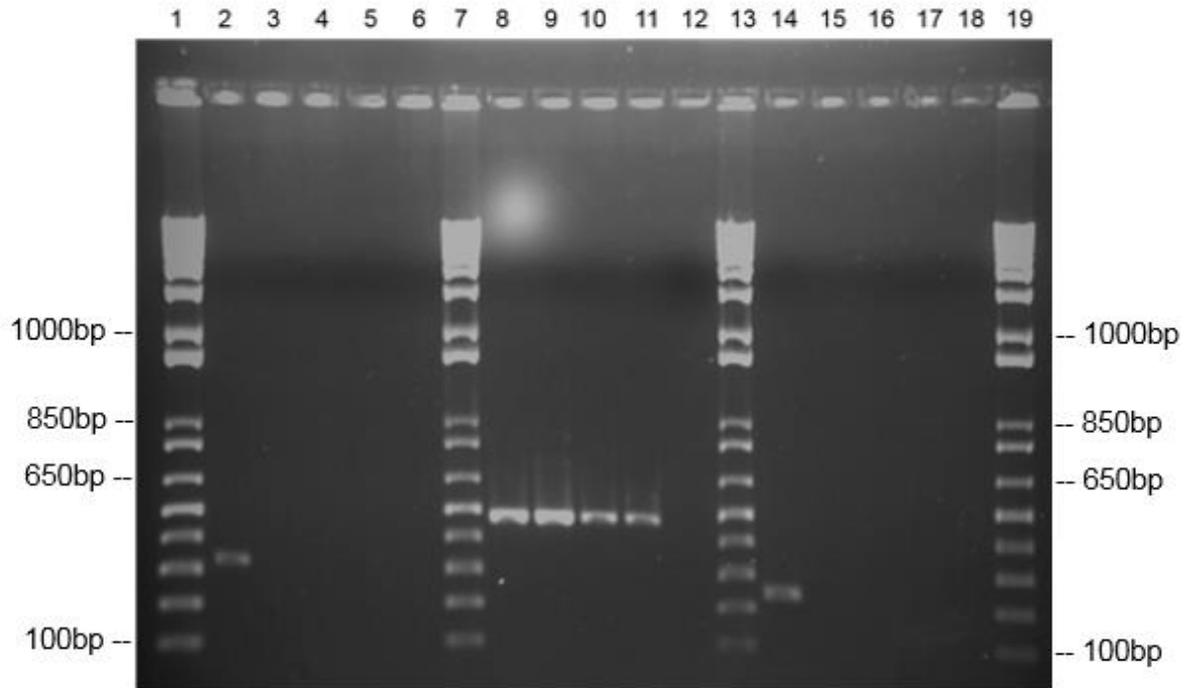
Todos os 61 (57,6%) isolados recuperados, do total de 106 encontrados, foram identificados com amplificação de DNA positiva para o *primer* de *S. brasiliensis*. (**Figura 11**). Os isolados também foram testados contra os *primers* de *S. schenckii* e *S. globosa* (**Figura 12**).

Figura 11: Eletroforese dos produtos da PCR utilizando *primers* específicos Sbra-F e Sbra-R dos isolados de *Sporothrix* spp.



Legenda: Eletroforese em gel de agarose a 1%. Amplificação de 8 isolados clínicos recuperados utilizando os *primers* Sbra-F e Sbra-R. (1) Peso molecular, (2) Controle positivo para *S. brasiliensis* (IPEC 16490), (3 a 10) Isolados do estudo: (3) IPEC 47504, (4) IPEC 50591, (5) IPEC 34634, (6) IPEC 48607, (7) IPEC 49875, (8) IPEC 49709, (9) IPEC 50107, (10) IPEC 50282, (11) Controle negativo, (12) Peso molecular; bp: pares de bases (*base pairs*).

Figura 12: Eletroforese dos produtos da PCR utilizando *primers* específicos de Sbra-F e Sbra-R, Ssch-F e Ssch-R e Sglo-F e Sglo-R, dos isolados de *Sporothrix* spp.



Legenda: Eletroforese em gel de agarose a 1%. Amplificação de 3 isolados clínicos recuperados utilizando os *primers* Sbra-F e Sbra-R., sendo testados também para Ssch-F e Ssch-R e Sglo-F e Sglo-R. (1) Peso molecular, (2) Controle positivo para *S. schenckii* (IPEC 36275), (3) IPEC 47504, (4) IPEC 50591, (5) IPEC 34634, (6) Controle negativo, (7) Peso molecular, (8) Controle positivo para *S. brasiliensis* (IPEC 16490) (9) IPEC 47504, (10) IPEC 50591, (11) IPEC 34634, (12) Controle negativo, (13) Peso molecular, (14) Controle positivo para *S. globosa* (IPEC 27135), (15) IPEC 47504, (16) IPEC 50591, (17) IPEC 34634, (18) Controle negativo, (19) Peso molecular.

6 DISCUSSÃO

Esse estudo envolvendo 325 pacientes é a maior casuística mundial sobre manifestações cutâneas de hipersensibilidade na esporotricose, correspondendo a 8,2% dos 3.964 casos de esporotricose atendidos no INI, no mesmo período. Barros et al. (2011), ao avaliarem a segurança e eficácia do itraconazol em 645 pacientes, observaram 13,5% de casos de manifestações cutâneas de hipersensibilidade; Freitas (2009) relatou 10,2% em um estudo envolvendo 804 pacientes. Nosso percentual está abaixo destes estudos. Entretanto, se considerarmos os 482 pacientes que tinham clínica compatível com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade, teremos 12,2% de ocorrência de tais manifestações, número semelhante ao da literatura. A realidade de grande parte dos serviços de saúde é o diagnóstico clínico-epidemiológico, sem comprovação micológica. Com isso a equipe de saúde dessas localidades deve se basear nesse percentual quanto à expectativa de ocorrência de hipersensibilidade.

Observou-se um elevado percentual de confirmação micológica (86%) até o ano de 2012, com um maior número de casos de esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade entre os anos de 2007 e 2012. Isto se deve ao fato de que o número absoluto de pacientes com esporotricose aumentou até o ano de 2012, no INI. Posteriormente, com a descentralização do atendimento da doença, houve redução no número de casos no instituto. Entretanto, como o perfil de atendimento passou a ser de casos mais complexos, havia uma percepção de um aumento no número de pacientes com hipersensibilidade, uma vez que estes quadros clínicos suscitam dúvida diagnóstica e são considerados complexos. Os resultados da frequência anual de casos atendidos não corroboram esta impressão na assistência. No gráfico de distribuição anual, observa-se clara redução na frequência de casos a partir de 2013, com uma queda nos índices de confirmação micológica (36%). Em 2013, ano de transição para a descentralização de atendimento dos casos mais simples de esporotricose do INI-Fiocruz para as demais unidades de saúde do estado do Rio de Janeiro, ocorreu um pico de casos clinicamente compatíveis com formas reacionais de esporotricose, mas não acompanhado de confirmação micológica. Uma explicação para esta dissociação é uma lacuna de disponibilidade de exame micológico durante os anos de 2013 a 2015. Assim, os pacientes eram diagnosticados com suspeita de esporotricose, mas muitos não tinham confirmação micológica. Ao longo de 2015, ocorreu uma retomada no diagnóstico micológico institucional, contudo em um ritmo ainda subnormal e com isso é possível observar uma tendência de aumento de casos confirmados a partir de 2017. A coleta para o exame

micológico foi plenamente normalizada somente em 2019. Outra explicação para esses números abaixo do esperado é uma possível melhora na expertise diagnóstica na rede básica de saúde e demais instituições, com conseqüente menos encaminhamento de casos ao INI-Fiocruz.

Quanto à distribuição etária e ao sexo dos pacientes, nossos dados diferem discretamente da literatura indexada acerca desta região hiperendêmica. A idade mediana foi de 46 anos, com predomínio de acometimento entre a 5ª e a 6ª década de vida e uma proporção de 80,6% de pacientes do sexo feminino. Barros et al. (2004) relataram uma mediana de 39 anos de idade, variando de 5 a 89 anos e uma proporção de mulheres de 68%, em uma casuística de 178 pacientes, entre 1998 e 2001. Em uma sequência de casuística institucional, Freitas (2009) publicou resultados sobre 804 pacientes, com média de idade de 42,6 anos, predomínio entre a 4ª e a 6ª década de vida (31 a 60 anos), com pico na 5ª década, com proporção de 67,7% de pacientes do sexo feminino (BARROS et al., 2001; BARROS et al., 2011; SILVA et al., 2012). Este perfil etário e com predomínio em pessoas do sexo feminino já é bem documentado e tem sido atribuído ao contato mais próximo com os gatos nos cuidados diários, no contexto de transmissão zoonótica regional. A diferença maior, observada em relação ao ainda mais amplo predomínio do sexo feminino nas formas com hipersensibilidade aqui estudadas, será mais bem explorada e discutida adiante. Quanto à diferença evidenciada por um representativo número de pacientes do sexo masculino na 1ª década de vida, não se sabe de outro resultado semelhante na literatura, bem como não parece razoável que essa desproporcionalidade em comparação ao sexo feminino seja relacionada a causas hormonais. É sabido que casos de EN ocorrem em crianças e jovens como manifestação de tuberculose primária, após teste de tuberculina e até mesmo, pré-exposição à tuberculina (KRITSOTAKIS, 2017). Em um estudo, crianças com EN apresentaram maior produção de IFN- γ em resposta ao teste da tuberculina comparado ao grupo de controle saudável e a crianças expostas a uma dose menor de tuberculina. A produção de TNF pareceu maior nos pacientes com EN. Sendo estas duas citocinas, atores-chave na ativação de macrófagos, em resposta à infecção micobacteriana, esses dados sugerem que EN ocorra em crianças com marcada imunidade anti-micobacteriana, entretanto, esses estudos não apresentam diferença entre sexos (NICOL et al., 2007). A constatação relacionada aos pacientes da 1ª década para o sexo masculino merece acompanhamento, estudos futuros e comparações para se avaliar sua persistência ou ocorrência fortuita.

O Rio de Janeiro foi a principal cidade de origem dos pacientes e concentrou 48% dos casos. Este fato pode ser explicado pela maior população absoluta da capital e pelo fato de o

INI-Fiocruz estar localizado neste município. Dentro da capital, a zona norte (N = 82; 52,6%) e a zona oeste (N = 70; 44,9%) foram destaques na origem dos casos analisados, com escassos casos nas zonas sul e central. Os casos ocorreram, também com destaque, nos municípios da região metropolitana do estado, notadamente na Baixada Fluminense. A ocorrência de casos nessas localidades mantém a distribuição já descrita em estudos previamente publicados, demonstrando o “cinturão da esporotricose”, explicado, em parte, pela baixa de serviços de saúde desses municípios, levando à busca de atendimento em centros de referência da capital, como o INI (BARROS et al., 2010; SILVA et al., 2012).

A concentração de casos em algumas zonas da capital e da região metropolitana, em contraste com a escassez de casos em áreas consideradas mais nobres, pode ser explicada, em parte, pelo alto índice de desenvolvimento humano (IDH), que compreende três dimensões do desenvolvimento humano: saúde/longevidade, educação e renda, e tem por objetivo medir o grau de desenvolvimento econômico e qualidade de vida oferecida à população (PNUD; IPEA; FJP, 2013). Com isso, a população com menos casos retrata áreas com mais acesso a serviços de saúde e dispõe de uma infraestrutura mais urbanizada, tendo um predomínio maior de edifícios e menos de casas com quintais de terra e vegetação, diminuindo a possibilidade de exposição do humano e do animal e propagação da doença. Em comunidades desfavorecidas da zona sul, também não foram observados muitos relatos de casos de esporotricose, o que poderia ser explicado pela menor quantidade de gatos presentes e excessivo número de construções, reduzindo possíveis áreas de terra e vegetação. Na zona central, apenas um caso foi relatado, o que também pode ser explicado pela disposição de uma infraestrutura mais urbanizada (SILVA et al., 2012).

Não houve ocupações associadas à esporotricose clássica, por transmissão ambiental, como trabalhadores rurais, jardineiros e floristas. Foi possível observar o predomínio de pacientes que estão fora do mercado de trabalho, como mulheres do lar, aposentados, desempregados, pensionistas, estudantes ou menores de idade (N = 134; 41,2%), grupos estes que estão mais relacionados às atividades domiciliares e peridomiciliares, favorecendo o contato com gato doméstico ou errante. Esses achados confirmam as características epidemiológicas da esporotricose, corroborando os dados da literatura (BARROS et al., 2010; FREITAS et al., 2010; GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015; SILVA et al., 2012).

Neste contexto, o contato com gato doente foi a principal forma provável de transmissão da doença aos pacientes, representando mais de 80% dos casos, com menor participação dos gatos aparentemente saudáveis, em torno de 10% dos casos. Schubach et al. (2002), em um estudo envolvendo amostras clínicas de gatos doentes e clinicamente hígidos,

demonstraram que *Sporothrix* spp. foi isolado de 100% das lesões cutâneas, 66,2% das cavidades nasais, 41,8% das cavidades orais e 39,5% das unhas obtidas de gatos com esporotricose. Vale ressaltar que o fungo também foi detectado em amostras da cavidade oral de três gatos clinicamente hígidos. Com isso, o gato além de ser um importante reservatório do fungo, é capaz de transmitir a doença mesmo sem manifestações clínicas aparentes e trauma direto ao ser humano, com um potencial zoonótico muito menor dos animais sadios em comparação aos doentes (BARROS et al., 2001; BARROS et al., 2004; FREITAS et al., 2010; GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015; SCHUBACH et al., 2001; SCHUBACH et al., 2005; SILVA et al., 2012). Essa característica se reflete no presente estudo, tendo o gato como principal agente de disseminação da doença e baixo número de traumas envolvendo planta ou solo (N= 4; 1,2%). Tal associação demonstrou ser ainda maior no grupo de pacientes sem manifestações cutâneas de hipersensibilidade (p=0,0334).

Quanto às formas clínicas, a forma linfocutânea foi predominante em 152 (46,8%) casos, seguida de perto pela forma cutânea fixa, diagnosticada em 136 (41,8%) pacientes. Esses números diferem do observado nas demais casuísticas da região, com a forma linfocutânea sendo menos preponderante do que a proporção nos estudos de casos gerais de esporotricose humana, como 55,6% de linfocutânea *versus* 25,3% de forma fixa (BARROS et al., 2004) e 66% de linfocutânea *versus* 25% de forma fixa (FREITAS et al., 2010). É descrito na literatura que, em áreas endêmicas, exposições contínuas ao fungo podem aos poucos conferir imunidade ao indivíduo ou este pode desenvolver a forma cutânea fixa no caso de reinfecção após contato prévio com o fungo (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; ROSA et al., 2005). Entretanto, mesmo estando em uma região hiperendêmica há mais de duas décadas, nosso grupo não tem observado um predomínio da forma fixa nos pacientes, mantendo-se uma proporção de cerca de 25-30% dos casos, o que não reforça, por ora, a teoria da associação entre forma fixa e reexposição ao fungo. No presente estudo, ao analisar cada forma clínica, foi encontrada associação apenas para a forma cutânea fixa (p<0,01). Com isso, pode-se inferir que esta forma clínica está relacionada a pacientes que desenvolvem essas manifestações cutâneas de hipersensibilidade e possuem um sistema imune competente. Um estudo de Morgado et al. (2011) sobre o perfil inflamatório das formas linfocutânea e fixa da esporotricose humana, demonstrou que a dinâmica do processo inflamatório difere entre essas formas clínicas. Na forma fixa, a resposta imune permite o controle da infecção sem destruição de tecidos adjacentes. Ao contrário, na forma linfocutânea esta resposta é mais intensa e difusa, com mais necrose e formação de pus. As lesões de pacientes com a forma linfocutânea tinham um percentual maior de neutrófilos quando comparadas às lesões de

pacientes com a forma fixa (mediana de 24,7% *versus* 6,7%, $p=0,002$), células CD4⁺ (mediana de 40,9% *versus* 30,0%, $p=0,0024$), CD22⁺ (mediana 15,3% *versus* 2,9%, $p=0,048$), e mais intensidade de expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (NOS2) ($p=0,009$). No presente estudo, analisando cada manifestação de hipersensibilidade, a SS foi a que apresentou maior proporção de pacientes com forma fixa, porém é necessário que haja uma amostra maior para confirmar uma relevância estatística inequívoca, bem como novos estudos quanto ao perfil imunofenotípico, tanto das lesões das diferentes formas clínicas quanto das lesões de hipersensibilidade.

As formas disseminadas de esporotricose, mais observadas em pacientes com alguma imunodeficiência, são raras em pacientes que desenvolvem as manifestações de hipersensibilidade. Uma possível explicação é o fato dessas manifestações ocorrerem por uma hiperativação imune (BJORN-MORTENSEN et al., 2016; SALIM; YOUNG, 2002). Dos 21 (6,5%) pacientes, nove (42,9%) desenvolveram essa forma clínica por meio de múltiplas inoculações (aranhões e mordeduras). Há uma outra hipótese que sugere que essa exposição repetida ao fungo, por seguidos inóculos, possa levar tanto ao surgimento das formas clínicas disseminadas, quanto das manifestações de hipersensibilidade, não sendo necessariamente causada por imunocomprometimento (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2002; OROFINO-COSTA et al., 2017). Na literatura, formas disseminadas (cutâneas ou extracutâneas) estão relacionadas ao uso de corticoides, a pacientes transplantados, com aids, diabetes mellitus, neoplasias malignas e outras formas de comprometimento do sistema imunológico (BONIFAZ; TIRADO-SANCHEZ, 2017; RAMOS-E-SILVA et al., 2007; ROSA et al., 2005). Embora essa forma clínica seja comum em pacientes imunocomprometidos, também pode ser observada em pacientes imunocompetentes, como em relatos de casos descritos por Romero-Cabello et al. (2011), Yap (2011) e Almeida-Paes et al. (2014). Esta ocorrência em pacientes imunocompetentes pode nos ajudar a compreender os casos da forma cutânea disseminada nos outros 12 (57,1%) pacientes sem documentação de múltiplos inóculos. Dentre eles, oito pacientes não apresentavam comorbidades. A paciente vivendo com HIV tinha a contagem de linfócitos T CD4⁺ normal, o que não configura uma imunossupressão. As comorbidades relatadas pelos outros três pacientes tinham potencial imunossupressor (diabetes mellitus e asma), porém sem documentação do quadro de base descompensado (**Apêndice C**). Entretanto, não se pode descartar a possibilidade de múltiplas inoculações nesses pacientes, ainda que imperceptíveis e não documentadas, pois vários traumas em diferentes locais podem ocorrer, seja durante o tratamento do animal ou ao brincar, uma vez

que é difícil identificar se a forma clínica é fruto de um ou vários inóculos (BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011).

Os pacientes que apresentaram formas extracutâneas (N = 10; 3,1%) como ocular e mucosa nasal, não tinham imunocomprometimento diagnosticado. As lesões dos gatos doentes são ricamente parasitadas por *S. brasiliensis* e, pela inoculação traumática ou por via aérea, o ser humano pode ser exposto a uma grande carga fúngica. Um estudo feito por Schubach et al. (2004), visando avaliar as características da epidemia de esporotricose em gatos, mostrou 44,4% de acometimento do trato respiratório de gatos doentes. O espirro foi um sinal presente em 36,8% daqueles gatos, sendo um importante fator disseminador do agente. Com isso, infere-se que a fisiopatogenia deste tipo de acometimento mucoso tenha sido por exposição com inoculação primária, traumática ou não, e não por disseminação hematogênica ou contiguidade.

As principais comorbidades encontradas, hipertensão arterial sistêmica e diabetes mellitus, são compatíveis com as comorbidades prevalentes no Brasil, na faixa etária predominante dos pacientes do estudo. Ressaltam-se os seis pacientes vivendo com HIV/aids desta casuística, configurando um percentual semelhante ao já descrito nas casuísticas do INI-Fiocruz para a esporotricose (FREITAS et al., 2010; FREITAS et al., 2014), maiores que a proporção atual de pessoas vivendo com HIV/aids no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019), mas possivelmente explicadas pela sobreposição de endemias e pelo viés institucional, de um centro de referência em doenças infecciosas, com grande coorte tanto de pessoas vivendo com HIV/aids quanto de pacientes com esporotricose.

Ao observar a disposição anatômica das lesões cutâneas de esporotricose, notou-se um maior acometimento dos membros superiores isoladamente (N = 200; 61,5%), com destaque para a forma linfocutânea (N = 126; 38,8%), seguido dos membros inferiores (N = 77; 23,7) e face em 20 (6,2%) pacientes. Barros et al. (2004) relataram que a frequência de lesões nos pacientes estudados também predominou nos membros superiores (N = 116; 65,2%), seguidas em prevalência nos membros inferiores, (N = 23; 12,9%) e na face (N = 11; 6,2%); Rosa et al. (2005) ao analisarem 304 casos de esporotricose, também observaram que os membros superiores eram os mais acometidos (N = 184; 60,5%), seguido dos membros inferiores (N = 91; 30%) e face (N = 24; 8%); Barros et al. (2011) relataram uma maior frequência de lesões nos membros superiores (N= 438; 67,9%), membros inferiores (N = 73; 11,3%) e face (N = 48; 7,9%), respectivamente. Os membros superiores são os locais de maior índice de trauma, tanto ao pegar para brincar quanto ao manusear o animal doente em tratamento (BARROS et al., 2010).

Com relação às manifestações cutâneas de hipersensibilidade, observou-se o EN como a principal (N = 160; 49,2%), seguido do EM (N = 120; 36,9%), SS (N = 20; 6,2%) e manifestações cutâneas mistas (N = 6; 1,8%). Essas manifestações tiveram associação ao gênero feminino ($p < 0,001$) e quando analisadas individualmente, observou-se que somente o EN teve associação com esse gênero ($p < 0,01$). Esses dados corroboram o estudo de Freitas (2009), envolvendo 804 pacientes de 2005 a 2008, também no INI-Fiocruz, no mesmo contexto de hiperendemia no Rio de Janeiro. Naquele estudo, a ocorrência com tais manifestações foi clinicamente diagnosticada em 82 pacientes analisados, 45 (54,9%) com EN, 35 (42,7%) com EM e dois (2,4%) casos com ambas as manifestações, quando foi descrita pela primeira vez uma associação estatística entre essas manifestações de hipersensibilidade e sexo feminino ($p < 0,02$), na esporotricose. Ao analisar cada manifestação individualmente, também foi encontrada associação com o sexo feminino apenas para o EN ($p = 0,005$). Foram 39 (47,6%) mulheres e apenas seis (7,3%) homens com esta forma de hipersensibilidade, enquanto que para EM foram 25 (30,5%) mulheres e 10 (12,2%) homens. À época desse estudo, ainda não havia o relato de SS no contexto da esporotricose.

Na literatura, é descrito que o EN ocorre entre a 2ª e a 4ª (11 a 40 anos) década de vida e é mais comum em mulheres, ocorrendo três a cinco vezes mais nestas em relação ao sexo masculino (CHOWANIEC; STARBA; WILAND, 2016; OZBAGCIVAN et al., 2017; LEUNG; LEONG; LAM, 2018). O EM ocorre em jovens adultos também entre a 2ª e a 4ª (11 a 40 anos) década de vida, com destaque para o sexo masculino (HUFF; WESTON; TONNESEN, 1983; MARTINEZ et al., 2010; PAULINO et al., 2018). Já a SS geralmente se apresenta em mulheres entre a 4ª e a 5ª década de vida (31 a 50 anos) (COHEN, 2007; FREITAS et al., 2012; VON-DEN-DRIESCH, 1994). Os achados envolvendo a idade mediana dos pacientes e prevalência de gênero para cada manifestação estão em concordância com a literatura, exceto para o EM, para o qual foi observada uma prevalência maior no sexo feminino (N = 91; 75,8%). Neste caso, é possível que, como a esporotricose de transmissão zoonótica no Rio de Janeiro predomina em mulheres, esta predominância tenha anulado um viés esperado de casos de EM em homens. Os números do presente estudo mostram uma pequena associação com o sexo para EM, com OR de cerca de 1,6. Para o EN, esta chance é cerca de 3,2 vezes, portanto, mais proeminente, sendo a manifestação de hipersensibilidade mais associada ao sexo, quando se trata do presente cenário da esporotricose no Rio de Janeiro.

Outras doenças infecciosas apresentam em sua diversidade clínica manifestações de hipersensibilidade. A coccidioidomicose, mesmo sendo menos frequente em mulheres,

apresenta maior prevalência de EN neste sexo. Em mulheres grávidas, a presença do EN é um marcador de bom prognóstico e recuperação, com uma taxa mais baixa para a necessidade de tratamento farmacológico (MEJÍA-JIMÉNEZ; CARDONA-CASTRO, 2016). Na histoplasmose, o EN foi mais frequente em mulheres do que em homens. Mais de 90% dos pacientes com EN eram mulheres, enquanto 48% de todos os casos eram mulheres. Quase 90% dos casos eram mulheres em dois outros surtos. O EN, independente da etiologia, costuma ser mais frequente em mulheres do que em homens (OZOLS; WHEAT, 1981). No EN hansênico, entretanto, o número de pacientes do sexo masculino recrutados para um estudo envolvendo características clínico-patológicas do EN hansênico, foi o dobro do número de pacientes do sexo feminino e semelhante a dados retrospectivos de cinco anos (2008–2013) de outro estudo sobre a mortalidade associada ao EN hansênico na Etiópia, que mostrava uma razão homens:mulheres de 1,7:1 (NEGERA et al., 2017; WALKER et al., 2017). Uma possível explicação biológica para a alta incidência de EN no sexo feminino é que esta manifestação esteja relacionada aos hormônios sexuais, uma vez que é frequente na gravidez (4,6%) ou pelo uso de contraceptivos orais. Após os anos 80, com a introdução dos contraceptivos com baixo estrogênio, foi observada uma incidência reduzida de EN. O papel dos hormônios sexuais na etiopatologia do EN não é suficientemente conhecido. Um mecanismo da influência dos estrogênios no sistema imunológico é modulá-lo para aumentar a produção de citocinas pelas células T e macrófagos. Pesquisas *in vitro* em modelos de camundongos mostraram que o fornecimento de estrógenos resulta em um número crescente de células produtoras de citocinas inflamatórias, como a interleucina 10 (IL-10) e IL-6 (CHOWANIEC; STARBA; WILAND, 2016).

Em relação ao tratamento com fármacos, o itraconazol na dose de 100 mg/dia foi o fármaco mais utilizado (N = 203; 74,4%), com tempo de tratamento de 12,3 semanas. A terbinafina na dose de 250 mg/dia foi a principal alternativa (N = 28; 10,3%), com tempo de tratamento de 12,9 semanas. Esses achados seguem o já descrito em estudos e relatos prévios, tendo o itraconazol como a terapêutica de escolha e a terbinafina como a principal alternativa, quando o itraconazol não pode ser administrado (BARROS et al., 2011; BARROS; PAES; SCHUBACH, 2011; FRANCESCONI et al., 2009; KAUFFMAN et al., 2007). Outro fármaco consagrado como tratamento na esporotricose, a SSKI, não é muito usada no INI-Fiocruz, pois o instituto disponibiliza tanto o itraconazol quanto a terbinafina gratuitamente aos pacientes. Entretanto, com base em parte do que é conhecido sobre seu mecanismo de ação, o KI pode ser uma boa opção terapêutica nos casos de esporotricose com manifestações de hipersensibilidade (OROFINO-COSTA et al., 2013a; OROFINO-COSTA et al., 2017).

O tempo de tratamento foi calculado individualmente entre os tipos de manifestações e esse resultado foi comparado com o tempo de tratamento de pacientes que tinham apenas esporotricose. Com isso, foi observado que a mediana de tratamento dos pacientes com EN foi cerca de uma semana maior em relação aos pacientes sem manifestação de hipersensibilidade, com p-valor significativo ($p=0,03622$), indicando que pacientes com EN demoram mais para curar, comparado ao grupo controle (sem manifestações de hipersensibilidade), diferença que não ocorreu para as outras manifestações frente ao grupo controle. Porém, na prática diária de acompanhamento clínico desses pacientes, essa semana a mais não parece ser relevante, tampouco um limitador nos casos com EN, já que o quadro inicial agudo da manifestação de hipersensibilidade e subagudo da esporotricose já estão resolvidos ou estabilizados próximo à suspensão do tratamento. O grupo de pacientes com SS, apesar de apresentar mediana de tempo de tratamento menor (10,1 semanas) não parece ter poder estatístico, provavelmente por sua amostra reduzida ($p=0,5241$). Comparando o tempo e o tratamento de forma geral entre os dois grupos de pacientes (com ou sem hipersensibilidade), não foram observadas diferenças significativas. Assim, refuta-se a hipótese inicial do estudo, de que os pacientes com quadro reacional curam mais rápido que os pacientes sem manifestações de hipersensibilidade. Esses dados confrontam a nossa percepção clínica de que os casos com manifestações cutâneas de hipersensibilidade curam mais rápido em relação aos casos clássicos (forma fixa e linfocutânea) de esporotricose. Ainda, divergem do estudo de Barros et al. (2011), que observaram que a ocorrência de EN estava estatisticamente associada (taxa de risco = 1,46; IC 95% [1,08; 1,96]) a uma evolução mais rápida para a cura em comparação ao grupo sem essas condições. No nosso estudo, com relação ao desfecho dos pacientes com e sem manifestações cutâneas de hipersensibilidade, não houve diferenças significativas ($p=0,167$), com índices de cura e abandono estatisticamente semelhantes.

A cura espontânea esteve presente em 11 (3,9%) casos. Este achado é menor do que o observado tradicionalmente na esporotricose, já descrito na literatura. Barros et al. (2004), relataram que dos 178 pacientes estudados, 13 (7,3%) haviam curado espontaneamente; Freitas (2009) observou que 87 (10,8%) de um total de 804 pacientes também curaram espontaneamente; já Almeida-Paes et al. (2014) relataram 3 casos de cura espontânea (6%) em 50 pacientes estudados. Uma possível explicação para este menor percentual encontrado em nosso estudo reside no fato de que o tratamento dos pacientes tem sido mais precoce, conforme a situação hiperendêmica se mantém e a equipe de saúde reconhece melhor a esporotricose.

Até meados dos anos 2000, no INI, era aguardado o resultado do exame micológico para dar início ao tratamento antifúngico. Atualmente, tem-se uma maior expertise e conhecimento em relação à esporotricose. Com isso, os profissionais já se sentem confiantes para iniciar o tratamento com base no diagnóstico clínico-epidemiológico, não dando chance para o paciente curar espontaneamente. Há alguns anos, acontecia de o paciente voltar um mês após a coleta do material para exame micológico, ainda sem diagnóstico definitivo e tratamento específico, e as lesões já estarem regredindo, sendo constatada uma cura espontânea. Não foram feitas análises de cura espontânea especificamente nos pacientes com manifestações cutâneas de hipersensibilidade nas casuísticas anteriores.

Na casuística de 804 pacientes, Freitas (2009) obteve 82 (10,2%) casos com tais manifestações e observou que destes, apenas três (3,6%) curaram espontaneamente (dados não publicados). Almeida-Paes et al. (2014) observaram que dos 50 pacientes estudados, 10 também possuíam essas manifestações e apenas um (10%) curou espontaneamente. Isso pode indicar como outro fator explicativo para o achado do presente estudo, que os pacientes com manifestações cutâneas de hipersensibilidade têm um percentual menor de cura espontânea em relação aos pacientes com esporotricose. A não observação de casos graves de hipersensibilidade, sem diagnóstico de NET ou de SSJ, além do elevado percentual de cura, em tempo próximo ao habitual para os casos mais clássicos da esporotricose, apontam para um prognóstico favorável dos quadros reacionais com manifestações cutâneas na esporotricose. Inclusive, NET e SSJ são complicações associadas a fármacos e não a quadros infecciosos. A mucosa destes pacientes costuma estar preservada, exceto por eritema ocular em alguns casos. Apesar de apresentarem febre, dores e lesões difusas, o desfecho é favorável, diante de um pronto diagnóstico e um correto esquema terapêutico.

Com relação à espécie do agente responsável pela infecção nesse grupo de pacientes, os achados estão em consonância com o já publicado em menor escala. Almeida-Paes et al. (2014) identificaram molecularmente os isolados de 50 pacientes com diferentes apresentações de esporotricose. Seis casos com EN e quatro casos com EM foram relatados e todos tinham infecção por *S. brasiliensis*. Todos os 61 isolados recuperados no nosso estudo, também com manifestações cutâneas de hipersensibilidade, foram identificados como *S. brasiliensis*, usando-se *primers* específicos para esta espécie, além de controles para as duas outras principais espécies de interesse clínico, *S. schenckii* e *S. globosa*. Os fragmentos de DNA obtidos corroboraram os dados da literatura, cujo tamanho esperado é de 469 pares de base (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2015).

Até o momento, na literatura indexada, não há relatos de identificação de outra espécie do gênero *Sporothrix* envolvida com casos de hipersensibilidade e, assim, enfatizamos que *S. brasiliensis* é a única espécie associada a estes quadros. Devido à falta de relatos em outras regiões geográficas do mundo, onde há predominância de outras espécies, infere-se que possa ser pela incapacidade dessas outras deflagrarem quadros de hipersensibilidade. Em um estudo recente, Martínez-Álvarez et al. (2017) relataram que havia diferenças na composição da parede celular de *S. schenckii* e *S. brasiliensis*, podendo influenciar na ação dos receptores imunes durante a estimulação de células mononucleares. Rossato et al. (2018) demonstraram que proteínas envolvidas nos processos de evasão imune eram expressas em *S. brasiliensis*, mas não em *S. schenckii*. Castro et al. (2013) evidenciaram que uma expressão maior da gp70 na parede celular do fungo se correlacionava com um perfil de virulência mais baixo. E um nível reduzido de expressão de gp70 em todos os isolados virulentos de *S. brasiliensis* foi observado. Como *S. brasiliensis* possui algumas características exclusivas, como na composição de sua parede celular e expressão de algumas proteínas, além de ser considerada a mais virulenta dentre as espécies, acredita-se que há uma possível diferença na forma de estimulação imunológica em relação a essa espécie (ALMEIDA-PAES et al., 2015; ARRILLAGA-MONCRIEFF et al., 2009; BATISTA-DUHARTE et al., 2018; FERNANDES et al., 2013).

Trichophyton mentagrophytes induz uma maior resposta imune e, portanto, possui maior probabilidade de produzir uma manifestação de hipersensibilidade como o EM (SALIM et al., 2002). Um estudo recente demonstrou excesso de resposta a citocinas (aumento da produção de IFN- γ) aos antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* em pacientes com EN (BJORN-MORTENSEN et al., 2016). A presença de altos níveis de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e IL-1 nos soros de pacientes com EN hansênico pode ser parcialmente responsável pelas manifestações clínicas da reação do tipo 2 na hanseníase (GUNAWAN et al., 2018). Com base nesses estudos com agentes da esporotricose e de outras doenças infecciosas, podem-se aventar hipóteses sobre parte dos diversos fatores envolvidos nas manifestações de hipersensibilidade e suas peculiaridades. Por ora, os conhecimentos e os fatos divulgados nos permitem inferir que haja um potencial diferenciado de *S. brasiliensis* em deflagrar as manifestações de hipersensibilidade descritas e identificadas tão unicamente no Brasil. Pela literatura disponível e pelo demonstrado no presente estudo, os casos de esporotricose com manifestações cutâneas de hipersensibilidade seguem um padrão sociodemográfico e epidemiológico semelhante ao dos casos gerais de esporotricose no contexto de transmissão zoonótica do Rio de Janeiro, com a particularidade

de acometimento ainda mais acentuado no sexo feminino. Quanto à clínica, há uma notável maior proporção da forma fixa quando comparado à esporotricose clássica sem hipersensibilidade.

7 CONCLUSÕES

- Os casos de esporotricose com manifestações cutâneas de hipersensibilidade no INI aumentaram em frequência em proporção semelhante aos casos gerais de esporotricose institucional, sofrendo queda após a descentralização de atendimento em 2013.
- A idade dos pacientes com manifestações cutâneas de hipersensibilidade variou discretamente quando comparada com os casos clássicos da esporotricose. Os demais aspectos sociodemográficos, epidemiológicos e clínico-evolutivos estão em concordância com a literatura.
- Eritema nodoso foi a principal manifestação cutânea de hipersensibilidade associada à esporotricose.
- A forma cutânea fixa foi estatisticamente associada às manifestações cutâneas de hipersensibilidade. Essas manifestações estiveram associadas ao sexo feminino e, quando analisadas individualmente, apenas o EN manteve esta associação.
- Não houve diferença no tempo de tratamento até a cura entre pacientes com e sem hipersensibilidade.
- Com relação à espécie do agente responsável pela infecção no grupo de pacientes estudado, *S. brasiliensis* é a única espécie associada aos quadros de manifestações cutâneas de hipersensibilidade.

8 PERSPECTIVAS

Estudos explorando os diferentes antígenos das espécies de *Sporothrix* devem ser continuados, de modo a se identificar os potenciais deflagradores do sistema imune, que possam estar relacionados às manifestações de hipersensibilidade.

É importante a criação e manutenção de uma rede de estudiosos sobre esporotricose, a fim de se identificar e divulgar novos casos de manifestações de hipersensibilidade, servindo como sentinela para indicadores da ocorrência dos mesmos em outras regiões e de possíveis outras espécies causadoras.

Identificar biomarcadores a partir de pacientes com e sem manifestações de hipersensibilidade na esporotricose que possam contribuir para o entendimento da doença e avanços no seu tratamento.

Manter uma coorte prospectiva para aumento da amostra de pacientes observados com as manifestações de hipersensibilidade e uma análise estatística ainda mais expressiva.

REFERÊNCIAS

- ALBA-FIERRO, C. A.; PÉREZ-TORRES, A.; TORIELLO, C. et al. Molecular components of the *Sporothrix schenckii* complex that induce immune response. **Curr Microbiol**, New York, v. 73, n. 2, p. 292–300, 2016.
- ALMEIDA, S. R. Therapeutic monoclonal antibody for sporotrichosis, **Front Microbiol**, Laussane, v. 3, p. 409, 2012.
- ALMEIDA-PAES, R.; OLIVEIRA, M. M.; FREITAS, D. F. et al. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* is associated with atypical clinical presentations. **PLoS Negl Trop Dis**, San Francisco, v. 8, n. 9, p. 3094, 2014.
- ALMEIDA-PAES, R.; DE OLIVEIRA, L. C.; OLIVEIRA, M. M. E. et al. Phenotypic Characteristics Associated with Virulence of Clinical Isolates from the *Sporothrix* Complex. **BioMed Res Int**, New York, v. 2015, p. 01–10, 2015.
- ALMEIDA-PAES, R. PIMENTA, M. A.; PIZZINI, C.V. et al. Use of mycelial-phase *Sporothrix schenckii* exoantigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of sporotrichosis by antibody detection. **Clin Vaccine Immunol**, Washington, v. 14, n. 3, p. 244–249, 2007.
- ARENAS, R.; SANCHEZ-CARDENAS, C. D.; RAMIREZ-HOBAKET, L. et al, Sporotrichosis: From KOH to Molecular Biology. **J Fungi**, Switzerland, v. 4, n. 2, p. 62, 2018.
- ARNOLD, K. A.; GAO, J.; STEIN, S. L. A review of cutaneous hypersensitivity reactions in infants: From common to concerning. **Pediatr Dermatol**, Boston, p. 1–9, 2019.
- ARRILLAGA-MONCRIEFF, I.; CAPILLA, J.; MAYAYO, E. et al. Different virulence levels of the species of *Sporothrix* in a murine model. **Clin Microbiol Infect**, Berlin, v. 15, n. 7, p. 651-655, 2009.
- AUNG, A. K.; TEH, B. M.; MCGRATH, C. et al. Pulmonary sporotrichosis: case series and systematic analysis of literature on clinico-radiological patterns and management outcomes. **Med Mycol**, Oxford, v. 51, n. 5, p. 534–544, 2013.
- AYANGCO, L.; ROGERS, R. S. Oral manifestations of erythema multiforme. **Dermatol Clin**, Philadelphia, v. 21, n. 1, p. 195–205, 2003.
- BARROS, M. B. L.; SCHUBACH T. M. P.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C. et al, Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 6, p. 777–779, 2001.
- BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, A. O.; VALLE, A. C. F. et al. Cat-Transmitted Sporotrichosis Epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: Description of a Series of Cases. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 38, n. 4, p. 529–535, 2004.
- BARROS, M. B. L.; COSTA, D. L.; SCHUBACH, T. M. et al, Endemic of zoonotic sporotrichosis: profile of cases in children, **Pediatr Infect Dis J**, Baltimore, v. 27, n. 3, p. 246–250, 2008.

- BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, T. P.; COLL, J. O. et al. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. **Rev Panam Salud Publica**, Washington, v. 27, n. 6, p. 455-460, 2010.
- BARROS, M. B. L.; PAES, R. A.; SCHUBACH, A. O. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clin Microbiol Rev**, Washington, v. 24, n. 4, p. 633–654, 2011.
- BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, A. O.; OLIVEIRA, R. V. C. et al, Treatment of cutaneous sporotrichosis with itraconazole - study of 645 patients. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 52, n. 12, p. 200–206, 2011.
- BATISTA-DUHARTE, A.; TÉLLEZ-MARTÍNEZ, D.; ANDRADE, C. R. et al. *Sporothrix brasiliensis* induces a more severe disease associated with sustained Th17 and regulatory T cells responses than *Sporothrix schenckii sensu stricto* in mice. **Fungal Biol**, Amsterdam, v. 122, n. 12, p. 1163–1170, 2018.
- BERNARDES-ENGEMANN, A. R.; COSTA, R. C. O.; MIGUENS, B. P. et al. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of several clinical forms of sporotrichosis. **Med Mycol**, Oxford, v. 43, n. 6, p. 487–493, 2005.
- BERNARDES-ENGEMANN, A. R.; BARROS, M. L.; ZEITUNE, T. et al. Validation of a serodiagnostic test for sporotrichosis: a follow-up study of patients related to the Rio de Janeiro zoonotic outbreak. **Med Mycol**, Oxford, v. 53, n. 1, p. 28–33, 2015.
- BJORN-MORTENSEN, K.; LADEFOGED, K.; SIMONSEN, J. et al, Erythema nodosum and the risk of tuberculosis in a high incidence setting. **Int J Saúde Circumpolar**, Finland, v. 75, p. 1-6, 2016.
- BLAKE, T.; MANAHAN, M.; RODINS, K. Erythema nodosum - a review of an uncommon panniculitis. **Dermatol Online J**, California, v. 20, n. 4, p. 22376, 2014. BONIFAZ, A.; TIRADO-SANCHEZ, A. Cutaneous Disseminated and Extracutaneous Sporotrichosis: Current Status of a Complex Disease. **J Fungi**, Switzerland, v. 3, n. 1, p. 6, 2017.
- BRUCE-HICKMAN, D.; JIANG, X.; THIA, J. J. P.; et al. Stevens-Johnson Syndrome complicated by obstructive uropathy, pneumothorax, and pneumomediastinum: a case report and literature review. **Burns Trauma**, Mumbai, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2019.
- CARLOS, I. Z.; SASSA, M. F.; SGARBI, D. B. G. et al. Current research on the immune response to experimental sporotrichosis. **Mycopathologia**, The Hague, v. 168, n. 1, p. 1-10, 2009.
- CARMICHAEL, J. W. Chrysosporium and some other aleuriosporic Hyphomycetes. **Can J Bot**, Ottawa, v. 40, n. 8, p. 1137-1173, 1962.
- CARRASQUILLO, O. Y.; SANTIAGO-VAZQUEZ, M.; CARDONA, R. et al. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a retrospective descriptive study. **Int J Dermatol**, Philadelphia, p. 1-7, 2019.
- CASTRO, R. A.; KUBITSCHKE-BARREIRA, P. H.; TEIXEIRA, P. A. C. et al, Differences in cell morphometry, cell wall topography and gp70 expression correlate with the virulence of *Sporothrix brasiliensis* clinical isolates. **PloS one**, San Francisco, v. 8, n. 10, p. e75656, 2013.
- CHAKRABARTI, A.; BONIFAZ, A.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; et al. Global epidemiology of sporotrichosis. **Med Mycol**, Oxford, v. 53, n. 1, p. 3–14, 2015.

- CHAN, M.; GOLDMAN, R. D. Erythema multiforme in children. **Can Fam Physician**, Don Mills, v. 59, n. 6, p. 635-636, 2013.
- CHOWANIEC, M.; STARBA, A.; WILAND, P. Erythema nodosum – review of the literature. **Reumatologia**, Warszawa v. 54, n. 2, p. 79–82, 2016.
- COHEN, P. R. Sweet’s syndrome--a comprehensive review of an acute febrile neutrophilic dermatosis, **Orphanet J Rare Dis**, London, v. 2, p. 34, 2007.
- COLES, F. B.; SCHUCHAT, A.; HIBBS, J. R. et al. A multistate outbreak of sporotrichosis associated with sphagnum moss. **Am J Epidemiol**, Cary, v. 136, n. 4, p. 475-487, 1992.
- CONTI-DIAZ, I. A. Epidemiology of sporotrichosis in Latin America. **Mycopathologia**, The Hague, v. 108, n. 2, p. 113–116, 1989.
- CORDEIRO, F. N.; BRUNO, C. B.; PAULA, C. D. et al. Familial occurrence of zoonotic sporotrichosis. **An Bras Dermatol**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 4 , p. 121-124, 2011.
- CRIBIER, B.; CAILLE, A; HEID, E. et al. Erythema nodosum and associated diseases. A study of 129 cases. **Int J Dermatol**, Philadelphia. v. 37, n. 9, p. 667–672, 1998.
- CRUZ, L. C. H. Complexo *Sporothrix schenckii*. Revisão de parte da literatura e considerações sobre o diagnóstico e a epidemiologia. **Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, v. 20, n. 0, p. 08–28, 2013.
- CRUZ, R.; VIEILLE, P.; OSCHILEWSKI, D. *Sporothrix globosa* isolation related to a case of lymphocutaneous sporotrichosis. **Rev Chilena Infectol**, Santiago, v. 29, n. 4, p. 401-405, 2012.
- DELLA-TERRA P. P.; RODRIGUES, A. M.; FERNANDES, G. F. et al. Exploring virulence and immunogenicity in the emerging pathogen *Sporothrix brasiliensis*. **PLoS Negl Trop Dis**. San Francisco, v. 11, n. 8, p. e0005903, 2017.
- DIAS, N. M.; OLIVEIRA, M. M.; SANTOS, C. et al. Sporotrichosis caused by *Sporothrix mexicana*, Portugal. **Emerg Infect Dis**, Atlanta, v. 17, n. 10, p. 1975-1976, 2011.
- DOOLEY, D. P.; BOSTIC, P. S.; BECKIUS, M. L. et al. A Point-Source Outbreak of Sporotrichosis Associated With Hay Bale Props in a Halloween Haunted House. **Arch Intern Med**, Chicago, v. 157, n. 16, p. 1885-1887, 1997.
- FERNANDES, G. F.; SANTOS, P. O.; RODRIGUES, A. M. et al. Characterization of virulence profile, protein secretion and immunogenicity of different *Sporothrix schenckii sensu stricto* isolates compared with *S. globosa* and *S. brasiliensis* species. **Virulence**, Austin, v. 4, n. 3, p. 241-249, 2013.
- ELTOHAMI, Y. I.; ALIM, N.E.; ABUAFFAN, A. H. Minor erythema multiforme case report. **MOJ Clin Med Case Rep**, [S.I.], v. 7, n. 4, p. 277-278, 2017.
- FALCÃO, E. M. M.; FILHO, J. B. L.; CAMPOS, D. P. et al, Hospitalizações e óbitos relacionados à esporotricose no Brasil (1992-2015), **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 4, p. 1-7, 2019.

- FERREIRA, C. P.; GALHARDO, M. C. G.; DO VALLE, A. C. F. Cryosurgery as adjuvant therapy in cutaneous sporotrichosis. **Braz J Infect Dis**, Salvador, v. 15, n. 2, p. 181–183, 2011.
- FERREIRA, C. P.; DO VALLE, A. C. F.; FREITAS, D. F. S. et al. Pregnancy during a sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, **Int J Gynaecol Obstet**, New York, v. 117, n. 3, p. 294–295, 2012.
- FICHMAN, V.; DO VALLE, A. C. F.; FREITAS, D. F. S.; et al. Cryosurgery for the treatment of cutaneous sporotrichosis: experience with 199 cases. **Br J Dermatol**, Oxford, 2019.
- FRANCESCONI, G.; VALLE, A. C.; PASSOS, S. et al. Terbinafine (250 mg/day): an effective and safe treatment of cutaneous sporotrichosis. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, Amsterdam, v. 23, n. 11, p. 1273–1276, 2009.
- FREITAS, D.F.S. **Dez anos de epidemia de esporotricose no estado do Rio de Janeiro: estudo clínico-epidemiológico e terapêutico dos casos atendidos no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas entre 2005-2008**. 2009. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) - Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 2009.
- FREITAS, D. F. S.; DO VALLE, A. C.; DE ALMEIDA PAES, R. et al. Zoonotic sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: a protracted epidemic yet to be curbed. **Clin Infect Dis**, Chicago, v. 50, n. 3, p. 453, 2010.
- FREITAS, D. F. S.; VALLE, A. C. F.; CUZZI, T. et al. Sweet syndrome associated with sporotrichosis. **Br J Dermatol**, Oxford, v. 166, n. 1, p. 212-213, 2012.
- FREITAS, D. F. S. **Avaliação de fatores epidemiológicos, micológicos, clínicos e terapêuticos associados à esporotricose**. 2014. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.
- FRENCH, L. E., PRINS, C. **Erythema Multiforme, Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis**. In: BOLOGNIA, J. L.; JORIZZO, J. L.; RAPINI, R. P. *Dermatology*, 2nd ed. St. Louis: Mosby; 2008. p. 287-300.
- GARCIA, S. C. G.; ALANIS, J. C. S.; FLORES, M. G. et al. Coccidioidomycosis and the skin: a comprehensive review. **An Bras Dermatol**, Barcelona, v. 90, n. 5, p. 610–619, 2015.
- GARCIA-CARNERO, L.; LOZOYA-PÉREZ, N.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, S. et al. Immunity and Treatment of Sporotrichosis. **J Fungi**, Basel, v. 4, n. 3, p. 100, 2018.
- GUARNER, J.; BRANDT, M. E. Histopathologic Diagnosis of Fungal Infections in the 21st Century. **Clin Microbiol Rev**, Washington, v. 24, n. 2, p. 247-280, 2011.
- GUARRO, J.; GENÉ, J.; STCHIGEL, A. M. Developments in fungal taxonomy. **Clin Microbiol Rev**, Washington, v. 12, n. 3, p. 454–500, 1999.
- GREMIÃO, I. D. F.; MENEZES, R. R. C.; SCHUBACH, T. M. P. et al. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. **Med Mycol**, Oxford, v. 53, n. 1, p. 15–21, 2015.

- GREMIÃO, I. D. F.; MIRANDA, L. H. M.; REIS, E. G. et al, Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLoS Pathog**, San Francisco, v. 13, n. 1, p. e1006077, 2017.
- GUNAWAN, H.; YOGYA, Y.; HAFINAH, R. et al, Reactive perforating leprosy, erythema multiforme-like reactions, sweet's syndrome-like reactions as atypical clinical manifestations of Type 2 leprosy reaction. **Int J Mycobacteriol**, Amsterdam, v. 7, n. 1, p. 97–100, 2018.
- GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; SCHUBACH, A. O; BARROS, M. B. L. et al. Erythema nodosum associated with sporotrichosis. **Int J Dermatol**, Philadelphia, v. 41, n. 2, p. 114–116, 2002.
- GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, A. O. et al. Erythema multiforme associated with sporotrichosis. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, Amsterdam, v. 19, n. 4, p. 507–509, 2005.
- GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; FREITAS, D. F. S.; VALLE, A. C. F. et al, Epidemiological Aspects of Sporotrichosis Epidemic in Brazil. **Curr Fungal Infect Rep**, Philadelphia, v. 9, n. 4, p. 238–245, 2015.
- HEBRA, F. **Acute, Non-Contagious, Exudative Dermatoses**. In: FAGGE, C. H. On diseases of the skin, including the exanthemata, London: The New Sydenham Society; 1866. p. 285-310.
- HEKTOEN, L.; PERKINS, C. F. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*. A new pathogenic fungus. **J Exp Med**, New York, v. 5, n. 1, p. 77–89, 1900.
- HOGAN L. H.; KLEIN, B. S.; LEVITZ, S. M. Virulence factors of medically important fungi. **Clin Microbiol Rev**, Washington, v. 9, n. 4, p. 469-488, 1996.
- HU, S.; CHUNG, W.; HUNG, S. et al. Detection of *Sporothrix schenckii* in clinical samples by a *nested* PCR assay. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 41, n. 4, p. 1414–1418, 2003.
- HUFF, J. C.; WESTON, W. L.; TONNESEN, M. G., Erythema multiforme: a critical review of characteristics, diagnostic criteria, and causes, **J Am Acad Dermatol**, St. Louis v. 8, n. 6, p. 763–775, 1983.
- IKEDA, M. A. K.; ALMEIDA, J. R. F.; JANNUZZI, G. P. Extracellular vesicles from *Sporothrix brasiliensis* are an important virulence factor that induce an increase in fungal burden in experimental sporotrichosis. **Front Microbiol**, Lausanne, v.8, p. 1-11, 2018.
- KANO, R.; NAKAMURA, Y.; WATANABE, S. et al. Identification of *Sporothrix schenckii* based on sequences of the chitin synthase 1 gene. **Mycoses**, Berlin, v. 44, n. 7–8, p. 261–265, 2001.
- KANO, R.; OKUBO, M.; SIEW, H. H. et al. Molecular typing of *Sporothrix schenckii* isolates from cats in Malaysia. **Mycoses**, Berlin, v. 58, n. 4, p. 220-224, 2015.
- KASUYA, A.; OHTA, I.; TOKURA, Y. Structural and Immunological Effects of Skin Cryoablation in a Mouse Model. **PLoS one**, San Francisco, v. 10, n. 3, p. e0123906, 2015.
- KAUFFMAN, C. A.; BUSTAMANTE, B., CHAPMAN, S. W. et al, Clinical Practice Guidelines for the Management of Sporotrichosis: 2007 Update by the Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis**, Cambridge, v. 45, n. 10, p. 1255–1265, 2007.

- KOHLER, L. M.; HAMDAN, J. S.; FERRARI, T. C. A. Successful treatment of a disseminated *Sporothrix schenckii* infection and in vitro analysis for antifungal susceptibility testing. **Diagn Microbiol Infect Dis**, New York, v. 58, n. 1, p. 117–120, 2007.
- KRITSOTAKIS, E. Erythema nodosum as sign of primary tuberculosis. **Oxf Med Case Reports**, Oxford, v. 2017, n. 8, p. 147-149, 2017.
- LACAZ, C. S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E. M. et al. Guia para identificação: fungos, actinomicetos e algas de interesse médico. In: LACAZ, C. S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E. M. et al, São Paulo: Sarvier; 1998. p. 1-445.
- LERCH, M.; MAINETTI, C.; TERZIROLI BERETTA-PICCOLI, B. et al. Current Perspectives on Erythema Multiforme. **Clin Rev Allergy Immunol**, Totowa, v. 54, n. 1, p. 177-184, 2018.
- LEUNG, A. K. C.; LEONG, K. F.; LAM, J. M. Erythema nodosum. **World J Pediatr**, Hangzhou, v. 14, n. 6, p. 548–554, 2018.
- LIMA, O. C.; BOUCHARA, J. P.; REINER, G. et al. Immunofluorescence and flow cytometry analysis of fibronectin and laminin binding to *Sporothrix schenckii* yeast cells and conidia. **Microb Pathog**, London, v. 37, n. 3, p. 131-140, 2004.
- LUNA, D. M. N.; CARVALHO, A. A. T. Eritema multiforme: uma revisão. **Int J Dent**, Cairo, v. 7, n. 1, p. 63-68, 2008.
- LOPES-BEZERRA, L. M.; SCHUBACH, A.; COSTA, R. O. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. **An Acad Bras Cienc**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 2, p. 293–308, 2006.
- LUTZ, A.; SPLENDORE, A. **Sobre uma mycose observada em homens e ratos**. In: BENCHIMOL, J. L.; SÁ, M. L. (Org.). Dermatologia e Micologia, Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2004; p. 429-454. Disponível em: Acesso em: 28 jun. 2018.
- LYELL, A. Toxic epidermal necrolysis: an eruption resembling scalding of the skin. **Br J Dermatol**, Oxford, v. 68, n. 11, p. 355 – 361, 1956.
- MACEDO, P. M.; LOPES-BEZERRA, L. M.; BERNARDES-ENGEMANN, A. R. et al. New posology of potassium iodide for the treatment of cutaneous sporotrichosis: study of efficacy and safety in 102 patients. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, Amsterdam, v. 29, n. 4, p. 719–724, 2015.
- MADRID, H.; CANO, J.; GENÉ, J. et al. *Sporothrix globosa*, a pathogenic fungus with widespread geographical distribution. **Rev Iberoam Micol**, Barcelona, v. 26, n. 3, p. 218-222, 2009.
- MADRID, I. M.; MATTEI, A.; MARTINS, A. et al, Feline sporotrichosis in the southern region of Rio Grande do Sul, Brazil: clinical, zoonotic and therapeutic aspects. **Zoonoses Public Health**, Berlin, v. 57, n. 2, p. 151–154, 2010.
- MAHAJAN, V.K. Sporotrichosis: An Overview and Therapeutic Options. **Dermatol Res Pract**, Cairo, v. 2014, p. 1–13, 2014.
- MARIMON, R.; GENÉ, J.; CANO, J. et al. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 45, n. 10, p. 3198-3206, 2007.

- MARIMON, R.; GENÉ, J.; CANO, J. et al. *Sporothrix luriei*: a rare fungus from clinical origin. **Med Mycol**, Oxford, v. 46, n. 6, p. 621-625, 2008.
- MARQUES, G. F.; MARTINS, A. L. G. P.; SOUSA, J. M. P. et al. Characterization of sporotrichosis cases treated in a dermatologic teaching unit in the state of São Paulo - Brazil, 2003 - 2013. **An Bras Dermatol**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 2, p. 273-275, 2015.
- MARQUES S. A.; FRANCO S. R.; DE CAMARGO R. M. et al. Sporotrichosis of the domestic cat (*Felis catus*): human transmission. **Rev Inst Med Trop**, Sao Paulo, v. 35, n. 4, p. 327-330, 1993.
- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, J. A.; PÉREZ-GARCÍA L. A.; FLORES-CARREÓN, A. et al. The immune response against *Candida* spp. and *Sporothrix schenckii*. **Rev Iberoam Micol**, Barcelona, v. 31, n. 1, p. 62-66, 2014.
- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, J. A.; PÉREZ-GARCÍA, L. A.; MELLADO-MOJICA, E. *Sporothrix schenckii sensu stricto* and *Sporothrix brasiliensis* are differentially recognized by human peripheral blood mononuclear cells. **Front Microbiol**, Lausanne, v. 8, p. 1-15, 2017.
- MARTÍNEZ-ÁLVAREZ, J. A.; GARCIA-CARNERO, L. C.; KUBITSCHKEK-BARREIRA, P. H. et al, Analysis of some immunogenic properties of the recombinant *Sporothrix schenckii* Gp70 expressed in *Escherichia coli*, *Future Microbiology*, London, v. 14, p. 397-410, 2019.
- MARTÍNEZ, R. S.; ANDRADE, D. M. R.; SCABAR, L.F. et al. A abordagem dos aspectos atuais do eritema multiforme e a Odontologia. **J Health Sci Inst**, [S.l.], v. 28. n. 3, p. 251-254. 2010.
- MCGUINNESS, S. L.; BOYD, R.; KIDD, S. et al. Epidemiological investigation of an outbreak of cutaneous sporotrichosis, Northern Territory, Australia. **BMC Infect Dis**, London, v. 16, n. 13, p. 16, 2016.
- MEJÍA-JIMÉNEZ M.; CARDONA-CASTRO N. Coccidioidomycosis: skin manifestations and hypersensitivity syndromes. **Rev CES Med**, Medellin, v. 30, n. 2, 188-199, 2016.
- MEYER, W.; MASZEWSKA, K.; SORRELL, T. C. PCR *fingerprinting*: a convenient molecular tool to distinguish between *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. **Med Mycol**, Oxford, v. 39, n. 2, p.185-193, 2001.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico de HIV e Aids 2019**. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2019/boletim-epidemiologico-de-hivaids-2019>. Acesso em: 23 jan. 2020.
- MINISTÉRIO DO TRABALHO. **Classificação Brasileira de Ocupações 2002**. Disponível em: <http://www.mtecbo.gov.br/cbosite/pages/home.jsf>. Acesso em: 14 dez. 2019.
- MONTENEGRO, H.; RODRIGUES, A. M.; DIAS, M. A. et al. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. **BMC Vet Res**, London, v. 10, n. 1, p. 269, 2014.
- MOREIRA, J. A.; FREITAS, D. F.; LAMAS, C. C. The impact of sporotrichosis in HIV-infected patients: a systematic review. **Infection**, [S.l.], v. 43, n. 3, p. 267-276, 2015.

- MORGADO, F. N.; SCHUBACH, A. O.; BARROS, M. B. L. et al. The in situ inflammatory profile of lymphocutaneous and fixed forms of human sporotrichosis. **Med Mycol**, Filadélfia, v. 49, n. 6, p. 612-620, 2011.
- MORRIS-JONES R. Sporotrichosis. **Clin Dermatol**, Wilmington, v.27, p. 427-431, 2002.
- MOUSSA, T. A. A.; KADASA, N. M. S.; ZAHraniET, H. S. A. I. et al. Origin and distribution of *Sporothrix globosa* causing sapronoses in Asia. **J Med Microbiol**, Irvine, v. 66, n. 5, p. 560–569, 2017.
- MUNIZ, M. M.; MORAES, E.S.T.P.; MEYER, W. et al. Comparison of Different DNA-Based Methods for Molecular Typing of *Histoplasma capsulatum*. **Appl Environ Microbiol**, Washington, v. 76, n. 13, p. 4438–4447, 2010.
- NASCIMENTO, R. C.; ALMEIDA, S. R. Humoral immune response against soluble and fractionate antigens in experimental sporotrichosis. **FEMS Immunol Med Microbiol**, Amsterdam, v. 43, n. 2, p. 241–247, 2005.
- NASCIMENTO, R. C.; ESPÍNDOLA, N. M.; CASTRO, R. A. et al. Passive immunization with monoclonal antibody against a 70-kDa putative adhesin of *Sporothrix schenckii* induces protection in murine sporotrichosis. **Eur J Immunol**, Weinheim, v. 38, n. 11, p. 3080–3089, 2008.
- NEGERA, E.; WALKER, S. L.; GIRMA, S. et al, Clinico-pathological features of erythema nodosum leprosum: A case-control study at ALERT hospital, Ethiopia. **PLoS Negl Trop Dis**, San Francisco, v. 11, n. 10, p. e0006011, 2017.
- NICOL, M. P.; KAMPMANN, B.; LAWRENCE, P. et al. Enhanced Anti-Mycobacterial Immunity in Children with Erythema Nodosum and a Positive Tuberculin Skin Test. **J Invest Dermatol**, New York, v. 127, n. 9, p. 2152-2157, 2007.
- NOBRE, M. O.; NASCENTE, P. S.; MEIRELES, M. C. et al. DROGAS ANTIFÚNGICAS PARA PEQUENOS E GRANDES ANIMAIS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 175–184, 2002.
- OLIVEIRA, L. C. ALMEIDA-PAES, R; PIZZINI, C. V. et al. Diagnostic performance of mycologic and serologic methods in a cohort of patients with suspected sporotrichosis. **Rev Iberoam Micol**, Barcelona, v. 36, n. 2, p. 61–65, 2019.
- OLIVEIRA, M. M.; ALMEIDA-PAES, R.; MEDEIROS MUNIZ, M. et al. Sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa* in Rio de Janeiro, Brazil: case report. **Mycopathologia**, The Hague, v. 169, n. 5, p. 359-363, 2010.
- OLIVEIRA, M. M.; DE ALMEIDA-PAES, R.; DE MEDEIROS MUNIZ, M. et al. Phenotypic and molecular identification of *Sporothrix* isolates from an endemic area of sporotrichosis in Brazil. **Mycopathologia**, The Hague, v. 172, n. 4, p. 257-267, 2011.
- OLIVEIRA, M. M. E.; SAMPAIO, P.; ALMEIDA-PAES, R. et al. Rapid identification of *Sporothrix* species by T3B PCR *fingerprinting*. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 50, n. 6, p. 2159-2162, 2012.
- OLIVEIRA, M. M. E; ALMEIDA-PAES, R.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C. et al. Molecular identification of the *Sporothrix schenckii* complex. **Rev Iberoam de Mico**, Barcelona, v. 31, n. 1, p. 2-6, 2014.

- OROFINO-COSTA, R.; BOIA, M. N.; MAGALHÃES, G. A. et al. Arthritis as a hypersensitivity reaction in a case of sporotrichosis transmitted by a sick cat: clinical and serological follow up of 13 months: Arthritis as hypersensitivity in sporotrichosis. **Mycoses**, Berlin, v. 53, n. 1, p. 81–83, 2010.
- OROFINO-COSTA, R.; BERNARDES-ENGEMANN, A. R.; AZULAY-ABULAFIA, L. et al. Esporotricose na gestação: relato de cinco casos numa epidemia zoonótica no Rio de Janeiro, Brasil. **An Bras Dermatol**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 5, p. 995–998, 2011.
- OROFINO-COSTA, R.; MACEDO, P. M.; CARVALHAL, A. et al. Use of potassium iodide in dermatology: updates on an old drug. **An Bras Dermatol**, Barcelona, v. 88, n. 3, p. 396–402, 2013a.
- OROFINO-COSTA R.; UNTERSTELL, N.; GRIPP, C. A. et al. Pulmonary cavitation and skin lesions mimicking tuberculosis in a HIV negative patient caused by *Sporothrix brasiliensis*. **Med Mycol Case Rep**, Amsterdam, v. 16, n. 2, p. 65-71, 2013b.
- OROFINO-COSTA, R. MACEDO, P.M.; RODRIGUES, A.M. et al. Sporotrichosis: an update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics, **An Bras Dermatol**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 5, p. 606–620, 2017.
- OZBAGCIVAN, O.; AKARSU, S.; AVCI, C.; et al. Examination of the Microbial Spectrum in the Etiology of Erythema Nodosum: A Retrospective Descriptive Study. **J Immunol Res**, Cairo, v. 2017, p. 1–8, 2017.
- OZOLS, I. I.; WHEAT, L. J. Erythema nodosum in an epidemic of histoplasmosis in Indianapolis. *Arch Dermatol*, Chicago, v. 117, n. 11, p. 709–712, 1981.
- PAIXÃO, A. G.; GALHARDO, M. C. G.; ALMEIDA-PAES, R. et al. The difficult management of disseminated *Sporothrix brasiliensis* in a patient with advanced AIDS. **AIDS Res Ther**, London, v. 12, n. 1, 2015.
- PAULINO, L.; HAMBLIN, J.; OSONDU, N. et al. Variants of Erythema Multiforme: A Case Report and Literature Review. **Cureus**, San Francisco, v. 10, n. 10, p. 1-8, 2018.
- PEREIRA, S. A.; GREMIÃO, I. D. F.; KITADA, A. A. B. et al. The epidemiological scenario of feline sporotrichosis in Rio de Janeiro, State of Rio de Janeiro, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, Rio de Janeiro, v. 47, n. 3, p. 392–393, 2014.
- PNUD, IPEA, FJP. **Atlas do desenvolvimento humano no Brasil 2013**. Disponível em: <http://atlasbrasil.org.br/2013/pt>. Acesso em: 23 jan. 2020.
- PORTUONDO, D. L.; BATISTA-DUHARTE. A.; FERREIRA, L. S. et al. Comparative efficacy and toxicity of two vaccine candidates against *Sporothrix schenckii* using either Montanide™ Pet Gel A or aluminum hydroxide adjuvants in mice. **Vaccine**, Amsterdam, v. 35, n. 34, p. 4430–4436, 2017.
- PORTUONDO, D. L.; DORES-SILVA, P. R.; FERREIRA, L. S. et al. Immunization with recombinant enolase of *Sporothrix* spp. (rSsEno) confers effective protection against sporotrichosis in mice. **Sci Rep**, London, v. 9, n. 1, p. 17179, 2019
- QUINTAL, D. Sporotrichosis Infection on Mines of the Witwatersrand. **J Cutan Med Surg**, Hamilton, v. 4, n. 1, p. 181-187, 2000.

- QUINTELLA, L. P.; PASSOS, S. R.; VALE, A. C. et al. Histopathology of cutaneous sporotrichosis in Rio de Janeiro: a series of 119 consecutive cases. **J Cutan Pathol**, Copenhagen, v. 38, n. 1, p. 25-32, 2011.
- RAMOS, M. L.; SANTIAGO, L. M.; TOME, T. Um caso típico de Síndrome de *Sweet*. **Ver Port Med Geral Fam**, Lisboa, v. 29, n. 3, p. 186-190, 2013.
- RAMOS-E-SILVA, M.; VASCONCELOS, C.; CARNEIRO, D. et al. Sporotrichosis. **Clin Dermatol**, Philadelphia, v. 25, p. 181-187, 2007.
- RIPPON, J. W. **Sporotrichosis** In: RIPPON, J. W. Medical mycology: the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1988. p. 325-352.
- RODRIGUES, A. M.; TEIXEIRA, M. M.; HOOG, G. S. et al. Phylogenetic Analysis Reveals a High Prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in Feline Sporotrichosis Outbreaks. **PLoS Negl Trop Dis**, San Francisco, v. 7, n. 6, p. e2281, 2013.
- RODRIGUES, A. M.; HOOG, G. S.; CAMARGO, Z. P. Molecular Diagnosis of Pathogenic *Sporothrix* Species. **PLoS Negl Trop Dis**, San Francisco, v. 9, n. 12, p. e0004190, 2015.
- RODRIGUES, A. M.; FERNANDES, G. F.; ARAUJO, L. M. et al. Proteomics-Based Characterization of the Humoral Immune Response in Sporotrichosis: Toward Discovery of Potential Diagnostic and Vaccine Antigens, **PLoS Negl Trop Dis**, San Francisco, v. 9, n. 8, p. e0004016, 2015.
- RODRIGUES, A. M.; CRUZ, C. R.; FERNANDES, G. F. et al. *Sporothrix chilensis* sp. nov. (Ascomycota: Ophiostomatales), a soil-borne agent of human sporotrichosis with mild-pathogenic potential to mammals. **Fungal Biol**, Amsterdam, v. 120, n. 2, p. 246–264, 2016.
- ROMERO-MARTINEZ, R.; WHEELER, M.; GUERRERO-PLATA, A. et al. Biosynthesis and functions of melanin in *Sporothrix schenckii*. **Infect Immun**, Bethesda, v. 68, n. 6, p.3696-3703, 2000.
- ROMERO-CABELLO, R.; BONIFAZ, A.; ROMERO-FEREGRINOET, R. et al. Disseminated sporotrichosis. **BMJ Case Rep**, London, p.1-4, 2011.
- ROSA, A. C.; SCROFERNEKER, M. L.; VETTORATO, R. et al. Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil. **J Am Acad Dermatol**, St. Louis, v. 52, n. 3, p. 451–459, 2005.
- ROSSATO, L.; MORENO, L. F.; JAMALIAN, A. et al. Proteins potentially involved in immune evasion strategies in *Sporothrix brasiliensis* elucidated by ultra-high-resolution mass spectrometry. **mSphere**, Washington, v. 3, n. 3, p. 14-17, 2018.
- RUIZ-BACA, E.; TORIELLO, C.; PEREZ-TORRES, U. et al. Isolation and some properties of a glycoprotein of 70 kDa (Gp70) from the cell wall of *Sporothrix schenckii* involved in fungal adherence to dermal extracellular matrix. **Med Mycol**, Oxford, v. 47, n. 2, p. 185–196, 2009.
- RYDER, N. S. Terbinafine: mode of action and properties of the squalene epoxidase inhibition. **Br J Dermatol**, Oxford, v. 126, n. 39, p. 2–7, 1992.

- SALIM, A.; YOUNG, E. Erythema multiforme associated with *Trichophyton mentagrophytes* infection. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, Oxford, v. 16, n. 6, p. 645–646, 2002.
- SANDHU, G. S.; KLINE B. C.; STOCKMAN, L. et al. Molecular probes for diagnosis of fungal infections. **J Clin Microbiol**. Washington, v. 33, n. 11, p. 2913-2919, 1995.
- SAMPAIO, S. A. P.; LACAZ, C. S.; ALMEIDA, F. Aspectos clínicos da esporotricose em São Paulo. **Rev Hosp Clin Fac Med**, São Paulo, v. 9, n. 6, p. 391-402, 1954.
- SCHENCK, B. R. On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the sporotricha. **Johns Hopkins Hosp Bull**, Baltimore, v. 9, p. 286 – 290, 1898.
- SCHUBACH, T. M. P.; VALLE, A. C. F.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C. et al, Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of domestic cats (*Felis catus*). **Med Mycol**, Oxford, v. 39, n. 1, p. 147–149, 2001.
- SCHUBACH, T. M. P.; SCHUBACH, A. O.; REIS R. S. O. et al. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil, **Mycopathologia**, The Hague v. 153, n. 2, p. 83–86, 2002.
- SCHUBACH, T. M. P.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T. et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). **J Am Vet Med Assoc**, Schaumburg, v. 224, n. 10, p. 1623-1629, 2004.
- SCHUBACH, A.; SCHUBACH, T. M. P.; BARROS, M. B. L. et al. Cat-transmitted Sporotrichosis, Rio de Janeiro, Brazil. **Emerg Infect Dis**, Atlanta, v. 11, n. 12, p. 1952-1954, 2005.
- SCHWARTZ, R. A.; NERVI, S. J. Erythema nodosum: a sign of systemic disease. **Am Fam Physician**, Kansas, v. 75, n. 5, p. 695–700, 2007.
- SILVA, L. M. C.; OLIVEIRA, F. M.; HOCHHEGGER, B. et al. Pulmonary sporotrichosis in Brazil: a case report and review. **Rev Patol Trop**, Goiânia, v. 42, n. 1, 2013.
- SILVA, J. N.; PASSOS, S. R. L.; MENEZES, R. C. et al. Diagnostic accuracy assessment of cytopathological examination of feline sporotrichosis. **Med Mycol**, Oxford, v. 53, n. 8, p. 880–884, 2015.
- SILVA, M. B. T.; COSTA, M. M. M.; TORRES, C.C.S. et al. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. **Cad Saude Publica**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 10, p. 1867-1880, 2012.
- SINGER, J. I.; MUNCIE, J. E. Sporotrichosis; etiologic considerations and report of additional cases from New York. **N Y State J Med**, Easton, v. 52, n. 17, p. 2147–2153, 1952.
- SINGHAI, M., RAWAT, V.; VERMA, P. et al. Primary Pulmonary Sporotrichosis in a Sub-Himalayan Patient. **J of Laboratory Physicians**, Mumbai, v. 4, n. 1, p. 48-49, 2012.
- SONG, Y.; LI, S. S.; ZHONG, S. X. et al. Report of 457 sporotrichosis cases from Jilin province, northeast China, a serious endemic region. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, Amsterdam, v. 27, n. 3, p. 313–318, 2013.
- STEVENS, A. M.; JOHNSON, F. C. A new eruptive fever associated with stomatitis and ophthalmia. **Am J Dis Child**, Chicago, v. 24, n. 6, p. 526-533, 1922.

- SWEET, R. D. An acute febrile neutrophilic dermatosis. **Br J Dermatol**, Oxford, v. 76, p. 349–56, 1964.
- TACHIBANA, T.; MATSUYAMA, T.; MITSUYAMA, M. Involvement of CD4+ T cells and macrophages in acquired protection against infection with *Sporothrix schenckii* in mice, **Med Mycol**, Oxford, v. 37, n. 6, p. 397–404, 1999.
- TELLEZ-MARTINEZ, D.; BATISTA-DUHARTE, A.; PORTUONDO, D. L. et al, Prophylactic and therapeutic vaccines against sporotrichosis. Feasibility and prospects, **Microbes Infect**, Paris, v. 21, n. 10, p. 432–440, 2019.
- THOMAS, B. A. The so-called Stevens-Johnson syndrome. **Br Med J**, London, v. 1, n. 4667, p. 1393 – 1397, 1950.
- VERMA, S.; VERMA, G. K.; SINGH, G. et al. Sporotrichosis in Sub-Himalayan India. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 6, n. 6, p.1673, 2012.
- VILLARREAL-VILLARREAL, C. D.; OCAMPO-CANDIANI, J.; VILLARREAL-MARTÍNEZ, A. Sweet Syndrome: A Review and Update. **Actas Dermosifiliogr**, Madrid, v. 107, n. 5, p. 369–378, 2016.
- VIRELLA, G. **Hypersensitivity Reactions**. In: VIRELLA, G. Introduction to Medical Immunology, New York: Marcel Dekker, Inc; 1998. p. 417-432.
- VON-DEN-DRIESCH, P. Sweet's syndrome (acute febrile neutrophilic dermatosis). **J Am Acad Dermatol**, St. Louis, v. 31, n. 4, p. 535–556; quiz 557–560, 1994.
- WALKER, S. L.; LEBAS, E.; DONI, S. N. et al. The mortality associated with erythema nodosum leprosum in Ethiopia: a retrospective hospital-based study, **PLoS Negl Trop Dis**, San Francisco, v. 8, n. 3, p. e2690, 2014.
- WILLAN, R. **Order III...IV. Erythema**. In: WILLAN, R. On cutaneous diseases, Philadelphia: Kimber and Conrad; Inc; 1809. p. 361-365.
- WINKELMANN, R. K.; FORSTROM, L. New observations in the histopathology of erythema nodosum. **J Invest Dermatol**, Baltimore, v. 65, n. 5, p. 441–446, 1975.
- WOJCIK A. S. L; NISHIMORI, F. S.; SANTAMARIA, J. R. Síndrome de Sweet: estudo de 23 casos. **An Bras Dermatol**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 2, p. 265-271, 2011.
- WONG, A.; MALVESTITI, A. A.; HAFNER, M. F. S. Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a review. **Rev Assoc Med Bras**, São Paulo, v. 62, n. 5, p. 468–473, 2016.
- YAP, F. B. Disseminated cutaneous sporotrichosis in an immunocompetent individual. **Int J Infect Dis**, Hamilton, v. 15, n. 10, p. 727–729, 2011.
- ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M.; ALMEIDA-PAES, R.; OLIVEIRA, M. M. E. et al. **New diagnostic applications in sporotrichosis**. In: KHOPKAR, U. Skin Biopsy Perspectives, Rijeka: In Tech; 2011. p. 53-72.
- ZHANG, Y. Q.; XU, X. G.; ZHANG, M. et al. Sporotrichosis: Clinical and Histopathological Manifestations. **Am J Dermatopathol**, New York, v. 33, n. 3, p. 296–302, 2011.

ZHANG, Y.; HAGEN, F.; STIELOW, B. et al. Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14 000 human and animal case reports. **Persoonia**, Leiden, v. 35, n. 1, p. 1–20, 2015.

ZHAO, L.; CUI, Y.; ZHEN, Y. et al. Genetic variation of *Sporothrix globosa* isolates from diverse geographic and clinical origins in China. **Emerg Microbes Infect**, New York, v. 6, n. 10, p. 1-13, 2017.

APÊNDICE A – Município de residência dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade no estado do Rio de Janeiro (INI/Fiocruz – 2005 a 2018).

Município	Frequência	%
Rio de Janeiro	156	48
Duque de Caxias	44	13,5
Nova Iguaçu	31	9,5
São João de Meriti	27	8,3
Belford Roxo	22	6,8
São Gonçalo	8	2,5
Mesquita	6	1,8
Magé	6	1,8
Nilópolis	5	1,5
Queimados	4	1,2
Niterói	3	0,9
Cabo Frio	2	0,6
Itaboraí	2	0,6
Japeri	2	0,6
Saquarema	2	0,6
Araruama	1	0,3
Itaguaí	1	0,3
Macuco	1	0,3
Maricá	1	0,3
Seropédica	1	0,3
Total	325	100

APÊNDICE B – Bairro de residência dos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade do município do Rio de Janeiro (INI/Fiocruz – 2005 a 2018).

Bairro (número de casos)		
Bangu (19)	Cosmos (2)	Jacarepaguá (1)
Campo Grande (14)	Curicica (2)	Jardim América (1)
Santa Cruz (8)	Engenho de Dentro (2)	Lins de Vasconcelos (1)
Brás de Pina (6)	Guaratiba (2)	Madureira (1)
Maré (5)	Honório Gurgel (2)	Méier (1)
Ramos (5)	Inhoaíba (2)	Maria da Graça (1)
Realengo (5)	Marechal Hermes (2)	Olaria (1)
Benfica (4)	Padre Miguel (2)	Parada de Lucas (1)
Coelho Neto (4)	Penha (2)	Pilares (1)
Ilha do Governador (4) ¹	Santíssimo (2)	Rocha (1)
Manguinhos (4)	Vaz Lobo (2)	Rocinha (1)
Rocha Miranda (4)	Vila Valqueire (2)	São Cristóvão (1)
Bonsucesso (3)	Barros Filho (1)	Tijuca (1)
Irajá (3)	Cidade Nova (1)	Tomás Coelho (1)
Paciência (3)	Colégio (1)	Vigário Geral (1)
Pavuna (3)	Deodoro (1)	Vista Alegre (1)
Quintino Bocaiuva (3)	Encantado (1)	
Turiaçu (3)	Engenheiro Leal (1)	
Anchieta (2)	Engenho da Rainha (1)	
Senador Vasconcelos (2)	Gardênia Azul (1)	
Sepetiba (2)	Ipanema (1)	

N = 156 (155 identificados e 1 indeterminado). 1: Os bairros Jardim Carioca, Portuguesa, Tauá e Zumbi foram agrupados como Ilha do Governador.

APÊNDICE C – Casos com a forma cutânea disseminada sem documentação de múltiplos inóculos em pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz – 2005 a 2018).

Número	Sexo	Idade	Comorbidade	Tempo de tratamento (semanas)
1	Feminino	28	-	10,3
2	Feminino	30	-	16,7
3	Feminino	37	HIV/aids (CD4>200 células/ μ L)	25,1
4	Feminino	12	-	12,9
5	Feminino	35	-	Abandono
6	Feminino	72	DM	23
7	Feminino	60	Asma/Bronquite	11,9
8	Feminino	41	-	8,1
9	Feminino	69	HAS + DM + Dislipidemia	31,7
10	Feminino	60	-	8,6
11	Feminino	41	-	17,7
12	Masculino	33	-	9

Aids: síndrome da imunodeficiência adquirida; DM: diabetes mellitus; HAS: hipertensão arterial sistêmica; HIV: vírus da imunodeficiência humana. N = 12.

APÊNDICE D - Localização das lesões de esporotricose nos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).

Local das lesões	Frequência	%
Linfocutânea		
MS	126	38,8
MI	18	5,5
Face	4	1,2
Tronco	3	0,9
Pescoço	1	0,3
Fixa		
MS	69	21,2
MI	57	17,5
Face	7	2,2
Cervical	1	0,3
Glúteo	1	0,3
Tronco	1	0,3
Cutânea disseminada		
MS + MI	6	1,8
MMSS	6	1,8
MS + tronco	3	0,9
MMII	2	0,6
MI + face	2	0,6
MS + face	1	0,3
MS + MI + face	1	0,3
Extracutânea		
Face	9	2,8
MS	1	0,3
Indeterminada		
MS	4	1,2
MI	2	0,6
Total	325	100

APÊNDICE E - Comorbidades relatadas pelos pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade (INI/Fiocruz - 2005 a 2018).

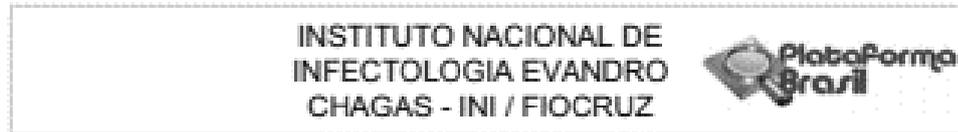
Comorbidades	Frequência	%
Hipertensão arterial sistêmica	57	43,8
Diabetes mellitus	16	12,3
Dislipidemia	7	5,4
HIV	7	5,4
Hipotireoidismo	6	4,6
Gastrite	5	3,8
Asma	4	3,1
Artrose	3	2,3
HCV	3	2,3
Cardiopatía	2	1,5
AVE	2	1,5
Etilismo	2	1,5
Anemia	2	1,5
Bronquite	1	0,8
Depressão	1	0,8
Pneumopatia	1	0,8
Tabagismo	1	0,8
Obesidade	1	0,8
Miastenia	1	0,8
Osteopenia	1	0,8
Osteoporose	1	0,8
Colelitíase	1	0,8
IVC	1	0,8
HBV	1	0,8
HTLV	1	0,8
LMC	1	0,8
Herpes	1	0,8
Total	130	100

HIV: vírus da imunodeficiência humana; HCV: hepatite C; AVE: acidente vascular encefálico; IVC: insuficiência venosa crônica; HBV: hepatite B; HTLV: vírus T-linfotrófico humano; LMC: leucemia mieloide crônica.

**APÊNDICE F - Tipos de tratamento realizados e responsáveis pela cura clínica dos
pacientes com esporotricose e manifestações cutâneas de hipersensibilidade
(INI/Fiocruz- 2005 a 2018).**

Tratamento
ITC 100 mg/d (203)
TERB 250 mg/d (28)
ITC 200 mg/d (11)
ITC 100 mg/d + 200 mg/d (7)
ITC 200 mg/d + 100 mg/d (6)
ITC 100 mg/d + TERB 250mg/d (4)
ITC 100 mg/d + 200 mg/d + 100 mg/d (2)
ITC 100 mg/d + 200 mg/d + 100 mg/d + 200 mg/d (1)
ITC 100 mg/d + TERB 500mg/d (1)
ITC 200 mg/d + TERB 250 mg/d (1)
ITC 400 mg/d + 100 mg/d (1)
ITC 400 mg/d + 200 mg/d (1)
ITC 75 mg/d (1)
ITC 400 mg/d (1)
FLU 150 mg/s (1)
ITC 100 mg/d + TERB 250 mg/d + ITC 100 mg/d + TERB 250 mg/d (1)
ITC 200 mg/d + TERB 250 mg/d + ITC 100 mg/d + TERB 500 mg/d + ITC 200 mg/d + ITC 100 mg/d (1)
TERB 250 mg/d + TERB 500 mg/d + ITC 200 mg/d (1)
TERB 250 mg/d + IP (1)
Total = 273
Legenda: ITC – itraconazol; TERB – terbinafina; FLU – fluconazol; IP – iodeto de potássio. mg/d - miligramas por dia.

ANEXO A – Parecer consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da casuística histórica de esporotricose humana com manifestações cutâneas de reação de hipersensibilidade do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, 1998 a 2018.

Pesquisador: Dayvison Francis Saraiva Freitas

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 03055818.8.0000.5262

Instituição Proponente: INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS - INIFIOCRUZ

Patrocinador Principal: INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS - INIFIOCRUZ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.095.183

Apresentação do Projeto:

Segundo a PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1246002.pdf:

INTRODUÇÃO:

1.1 *Esporotricose e Sporothrix spp.* - A esporotricose é uma micose subcutânea descrita pela primeira vez em 1898 por Schenck (SCHENCK, 1898).

Os agentes causadores, fungos do gênero *Sporothrix*, na sua fase sapróbia ou quando cultivados a 25°C, assumem forma filamentosa.

Macroscopicamente, suas colônias são brancas a creme no início, adquirindo uma tonalidade que varia do marrom ao negro após alguns dias; contudo, colônias escuras podem ser formadas desde o início do crescimento por algumas cepas. Microscopicamente, elas são compostas de hifas hialinas e septadas, de 1-2 μ m de largura, com células conidiogênicas que surgem de hifas indiferenciadas e que formam conídios em grupos, em pequenos denticulos. Estes conídios unicelulares apresentam forma de lágrima a clavados. Quando cultivadas a 37°C, ou em parasitismo, assumem uma forma leveduriforme. Macroscopicamente, suas colônias são lisas, variando da cor bege a creme. Microscopicamente, as células leveduriformes podem ser observadas de várias formas, tais como redondas ou ovais, com 2 a 6 μ m de diâmetro. Geralmente têm brotamento alongado em forma de charuto, saindo de uma base estreita da célula-mãe

Endereço: Avenida Brasil 4365
 Bairro: Mangueiras CEP: 21.040-360
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21) 3965-9565 E-mail: cep@ini.fiocruz.br

INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS - INI / FIOCRUZ



Continuação do Parecer: 3.095.183

(ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2011). Atualmente, estudos moleculares demonstram uma diversidade de espécies filogeneticamente relacionadas, pertencentes ao gênero *Sporothrix*. As espécies de maior interesse clínico são *Sporothrix*

schenckii sensu stricto, *Sporothrix brasiliensis* e *Sporothrix globosa*, mas há potencial patogênico também descrito para *Sporothrix mexicana*, *Sporothrix pallida*, *Sporothrix luriei* e *Sporothrix chilensis* (MARIMON et al., 2007; 2008; DIAS et al., 2011; MORRISON et al., 2013; RODRIGUES et al., 2016). *Sporothrix* spp. distribuem-se mundialmente, especialmente em regiões tropicais e subtropicais, com áreas de alta endemicidade na América Latina (CONTI-DIAZ, 1989; ALMEIDA-PAES et al., 2014) e parecem estar associadas a características clínicas peculiares, como *S. brasiliensis*, na hiperendemia do estado do Rio de Janeiro, que se relaciona a manifestações clínicas incomuns e potencialmente graves (ALMEIDA-PAES et al., 2014). A forma clássica de transmissão ocorre pelo traumatismo cutâneo com farpas de madeira ou espinhos de roseira, por exemplo, e atinge principalmente agricultores, jardineiros ou indivíduos que entram em contato com esses e outros substratos orgânicos, habitat natural do fungo em sua forma filamentosa com conídios (ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2011; CRUZ; VIEILLE; OSCHILEWSKI, 2012; CHAKRABARTI et al., 2015; MCGUINNES et al., 2016). Casos raros de infecção por inalação de propágulos de células fúngicas podem ocorrer, ocasionando doença pulmonar (SINGHAI et al., 2012). A transmissão zoonótica do agente causador também é possível e vem predominando na hiperendemia do Rio de Janeiro, iniciada em 1998, tendo como principal fonte o gato doméstico ou errante, por meio da arranhadura/mordedura ou pelo contato com as lesões do mesmo, acometendo principalmente mulheres do lar e outras pessoas que lidam com estes animais (SCHUBACH et al., 2005; FREITAS et al., 2010; CORDEIRO et al., 2011; SILVA et al., 2012). De acordo com Silva et al. (2012), a esporotricose na região metropolitana do Rio de Janeiro ficou evidenciada como uma doença urbana, não laborativa e de localidades carentes de condições de infraestrutura e saneamento. Esta doença pode acometer o ser humano de ambos os sexos e de qualquer faixa etária ou raça, independente de fatores individuais predisponentes (BARROS et al., 2010). O isolamento e identificação de seu agente causal a partir de espécimes clínicos constituem padrão-ouro no diagnóstico dessa doença. Contudo, é importante também a correlação de seus aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais durante essa busca

(ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2011).

1.2 Formas clínicas de esporotricose e reações de hipersensibilidade - As manifestações clínicas da esporotricose são variáveis e relacionadas ao estado imune do hospedeiro, quantidade e profundidade do inóculo fúngico, patogenicidade e termotolerância da cepa (ZANCOPE-OLIVEIRA

Endereço: Avenida Brasil 4365
Bairro: Marquinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21) 2665-9585 E-mail: cep@ini.fiocruz.br

Continuação do Parecer: 3.085.183

et al., 2011; ALMEIDA-PAES et al., 2014; MARQUES et al., 2015). A forma de apresentação mais comum é a linfocutânea, com úlceras e nódulos próximos à lesão primária, em distribuição linfática. A forma cutânea fixa, segunda em frequência nas casuísticas relatadas, é caracterizada por uma lesão localizada sem envolvimento linfático. Na forma cutânea disseminada, estão presentes várias lesões de pele por múltiplos inóculos ou por propagação hematogênica do agente, esta última mais comum em imunossuprimidos. A forma extracutânea disseminada, mais rara de todas, é constituída por acometimento de outros órgãos, seja por inalação de progângulos do fungo, disseminação por contiguidade ou por via hematogênica do agente, a partir da pele e mucosas (BARROS et al., 2011a). Condições clínicas associadas não são infrequentes no curso da esporotricose. Além dos sintomas gerais como febre, mal-estar, cefaleia, astenia, e outros, sinais e sintomas de hipersensibilidade ao fungo no organismo são apresentados por alguns pacientes (BARROS et al., 2004; FREITAS et al., 2010). As reações de hipersensibilidade descritas até o momento, atribuídas à esporotricose, incluem eritema nodoso (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2002), eritema multiforme (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2005), síndrome de Sweet (FREITAS et al., 2012) e artrite reativa (OROFINO-COSTA et al., 2010). Os quadros reacionais cutâneos, apesar de terem distinção clínica e histopatológica, têm associações conhecidas e descritas semelhantes. Constituem síndromes com mecanismos de hipersensibilidade no contexto de infecções, neoplasias, doenças inflamatórias e uso de medicamentos. No eritema nodoso, são observados nódulos eritematosos e dolorosos de surgimento eruptivo nos membros inferiores, que podem vir acompanhados de febre, artralgia e mal-estar (CRIBIER et al., 1998; GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2002). O eritema multiforme é uma desordem vesículo-bolhosa com manifestações de espectro variável de acometimento cutâneo (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2005; LERCH et al., 2018). A síndrome de Sweet é caracterizada por febre, início abrupto de pápulas, placas ou nódulos eritematosos dolorosos, leucocitose com neutrofilia no hemograma e achados histológicos de um denso infiltrado neutrofilico sem evidência de vasculite primária. Normalmente, acomete mulheres de meia-idade (SWEET, 1964; FREITAS et al., 2012). Barros et al. (2004), ao analisarem 178 pacientes com esporotricose no início da hiperendemia no Rio de Janeiro, atendidos no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), relataram a ocorrência de eritema nodoso em 8 (4,5%) pacientes e de eritema multiforme em 2 (1,1%). Em estudo com pacientes de 2005 a 2008, também atendidos no INI, a ocorrência de reações de hipersensibilidade com manifestações cutâneas foi clinicamente diagnosticada em 82 dos 804 pacientes analisados (10,2%) - 45 com eritema nodoso, 35 com eritema multiforme e 2 casos com ambas as reações. Tais reações estiveram associadas ao gênero feminino, $p < 0,02$. Quando

Endereço: Avenida Brasil 4365
Bairro: Marquinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3965-9585 E-mail: cep@ini.fiocruz.br

Continuação do Parecer: 3.086.183

analisado individualmente cada tipo de reação, foi encontrada associação com o gênero feminino apenas para o eritema nodoso, $p=0,005$. Foram 39 mulheres e apenas 6 homens com esta forma de hipersensibilidade, enquanto que para eritema multiforme foram 25 mulheres e 10 homens (FREITAS, 2009). Barros et al. (2011b), na mesma instituição, observaram um desfecho estatisticamente favorável nos pacientes que apresentavam eritema nodoso associado à esporotricose, com chance de curar mais rápido em relação aos pacientes sem esta forma de hipersensibilidade, em uma amostra de 645 casos de esporotricose. Em outro estudo, com identificação molecular de fungos de 50 pacientes com diferentes apresentações de esporotricose, os 6 casos com eritema nodoso e os 4 casos com eritema multiforme tinham infecção por *S. brasiliensis* (ALMEIDA-PAES et al., 2014). Não há relatos de identificação de outra espécie envolvida em casos de esporotricose com reação de hipersensibilidade até o momento, na literatura indexada.

1.3 Identificação das espécies de Sporothrix - A identificação das espécies do gênero *Sporothrix* tradicionalmente é feita por meio de análises fenotípicas como macro e micromorfologia e assimilação de açúcares. Entretanto, este processo demora em torno de 2 a 4 semanas, devido ao ritmo de crescimento e conversão morfológica das culturas. Outra limitação é a ocorrência de variações intraespecíficas, tornando inconclusiva a

identificação fenotípica (OLIVEIRA et al., 2011). Com isso, métodos moleculares foram introduzidos no âmbito da pesquisa, com o intuito de otimizar o diagnóstico da esporotricose, objetivando sensibilidade, especificidade e precisão (ZANCOPÉ-OLIVEIRA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012; OROFINO-COSTA et al., 2017). O estudo pioneiro utilizando a metodologia de detecção de DNA para o diagnóstico de infecções fúngicas foi

relatado por Sandhu et al. (1995), no qual os autores desenvolveram 21 primers específicos com alvo para a grande subunidade do ácido ribonucleico ribossomal (rRNA) de diversos fungos, incluindo *Sporothrix* spp. Os resultados apresentaram um alto nível de especificidade (SANDHU et al., 1995). Diversos estudos taxonômicos moleculares utilizando diferentes metodologias, como a restriction fragment length polymorphism (RFLP) de diferentes genes alvos, random amplified polymorphic DNA (RAPD), sequenciamento do DNA da região de transcrição interna do rRNA (ITS), reação em cadeia da polimerase (PCR) com alvo nos genes das enzimas topoisomerase II, quitina sintase 1 e outras, amplified fragment length polymorphism (AFLP), e M13 PCR fingerprinting demonstraram que isolados de *Sporothrix* apresentavam polimorfismos, sugerindo que poderiam não ser apenas uma espécie (KANO et al., 2001; HU et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2014). Contudo, a diferenciação em espécies ganhou robustez em 2007, quando Marimon et al. propuseram a

Endereço: Avenida Brasil 4365
Bairro: Marquinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21) 3885-9585 E-mail: cep@ini.fiocruz.br

INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS - INI / FIOCRUZ



Continuação do Parecer: 3.095.183

esclarecido e assinatura do mesmo, quando assim o paciente consentir (apêndice B). Não serão citados nomes, números de prontuário ou similares em nenhuma publicação. O único risco envolvido é o de quebra de sigilo. Os pesquisadores envolvidos no projeto terão acesso ao sistema de dados dos pacientes e aos computadores da instituição por meio de identificação e senha individuais. Todos os dados serão analisados anonimamente, de forma a garantir a proteção do participante do estudo quanto ao risco de quebra de sigilo.

Caracterização genotípica de isolados

Extração de DNA: A extração do DNA será realizada com o fungo na fase filamentosa, por meio da lise mecânica utilizando o nitrogênio líquido, de acordo com protocolos desenvolvidos previamente (MUNIZ et al., 2010).

Utilização de marcadores moleculares específicos para a diferenciação de espécies: Baseado nas sequências gênicas da CAL, serão utilizados primers espécie-específicos desenvolvidos por Rodrigues et al. (2015). A PCR será realizada no volume final de 25 L, incluindo Buffer 1x PCR, 3 mM MgCl₂, 0,4 mM de cada dinucleotídeo (dNTPs), 50 U/ml Taq Polymerase, 10 pmol/L de cada primer (forward e reverse) e 100 ng/L de DNA. A reação ocorrerá com desnaturação inicial a 95°C por cinco minutos; seguidos de 35 ciclos de desnaturação a 95°C por um minuto, temperatura de anelamento a 70°C no primeiro ciclo com subsequente redução da temperatura, 1°C a cada dois ciclos, temperatura final de anelamento a 60°C pelos últimos 15 ciclos, extensão a 72°C por um minuto e extensão final a 72°C por 10 minutos.

Eletroforese em gel de agarose: Amplificação será confirmada pela visualização dos amplicons após a eletroforese em gel de agarose a 1,2% (Agarose Ultra-Pure – Invitrogen) em TBE 0,5X (Tris 0,1 M, ácido bórico 0,09 M, EDTA 0,001 M, pH 8,4). O gel será corado com brometo de etídio (0,5 ug/ml por 30 minutos) e lavado com água destilada por 30 minutos antes de ser examinado em UV transiluminador – Hoefer Scientific Inc.

Critério de Inclusão:

Serão incluídos todos os pacientes atendidos no INI, de 1998 a 2018, com diagnóstico de esporotricose confirmado por cultura positiva para *Sporothrix* e documentação em prontuário de manifestação cutânea de hipersensibilidade atribuída à esporotricose (eritema nodoso, eritema multiforme ou síndrome de Sweet). Para análise molecular, serão incluídos os isolados fúngicos destes pacientes que estejam preservados no setor de Diagnóstico Micológico do Laboratório de Micologia do INI.

Endereço: Avenida Brasil 4365
Bairro: Marquinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21) 3865-9585 E-mail: cep@ini.fiocruz.br

INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS - INI / FIOCRUZ



Continuação do Parecer: 3.095.183

combinação de características fenotípicas (macroscopia da colônia, microscopia dos conídios, assimilação de sacarose e rafinose, capacidade de crescer a 37°C) e genotípicas (sequenciamento parcial do gene da calmodulina (CAL)), para formar uma chave de identificação no gênero. Dentre diversas técnicas para distinguir as espécies, Rodrigues et al. (2015), desenvolveram um painel de novos marcadores, com base no gene da CAL, testando em conídios de culturas e em amostras clínicas de animais infectados em laboratório, diferenciando as espécies de maior interesse clínico em um nível de detecção mínimo de 10-100 fg de DNA de *Sporothrix*. Esta técnica se mostrou rápida, eficiente, sensível e de fácil execução (RODRIGUES; HOOG; CAMARGO, 2015).

Metodologia Proposta:

Constam neste campo os itens da metodologia original não presentes nos demais campos da plataforma:

Utilização de grupos vulneráveis

Pode ser que haja pacientes menores de idade incluídos no estudo.

Cálculo amostral, período ou duração do projeto

Estudo por levantamento de prontuários de pacientes com esporotricose no INI. Todos os pacientes que estiverem nos critérios de inclusão terão suas variáveis de interesse estudadas, como uma amostra de conveniência, histórica institucional. O projeto será concluído em 14 meses, conforme detalhamento do cronograma.

Crítérios para suspender ou encerrar o estudo ou retirar os voluntários

Pacientes contactáveis que não autorizem sua permanência no estudo, a qualquer momento, até o encerramento, terão seus dados retirados das análises.

Procedimentos para coleta de amostras biológicas, registros e dados de seres humanos

Os isolados fúngicos já foram coletados no momento da investigação diagnóstica e estão armazenados no Laboratório de Micologia do INI.

Nenhuma amostra clínica foi ou será coletada e/ou armazenada para fins deste estudo. Os dados dos pacientes serão acessados por revisão dos registros no Sipec.

Medidas de proteção à confidencialidade

O coordenador do projeto assinará um termo de compromisso e responsabilidade (apêndice A) assegurando a confidencialidade dos dados dos pacientes inseridos no estudo. Para os pacientes ainda contactáveis, uma vez que a maioria já recebeu alta e não faz seguimento no INI, será solicitado o comparecimento à unidade para apresentação de termo de consentimento livre e

Endereço: Avenida Brasil 4365
 Bairro: Marquinhos CEP: 21.040-360
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)3865-9585 E-mail: cep@ini.fiocruz.br

INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS - INI / FIOCRUZ



Continuação do Parecer: 3.085.183

- TLCE_Hipersensibilidade_0511.pdf.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Uma vez que o protocolo obedece as normas de condução de pesquisas em seres humanos regulamentadas pelo CNS/MS, indicamos sua aprovação de acordo com a Res. CNS no. 466/12 pelo CEP- INI com a previsão de relatórios semestrais de acompanhamento.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_1246002.pdf	30/11/2018 20:50:31		Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	30/11/2018 20:49:24	Dayvison Francis Saraiva Freitas	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Hipersensibilidade_0511.docx	05/11/2018 13:16:52	Dayvison Francis Saraiva Freitas	Aceito
Orçamento	Orçamento.docx	05/11/2018 13:15:32	Dayvison Francis Saraiva Freitas	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_Compromisso_e_Responsab lidade_0511.pdf	05/11/2018 13:15:07	Dayvison Francis Saraiva Freitas	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_TCLE_0511.pdf	05/11/2018 13:14:41	Dayvison Francis Saraiva Freitas	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TLCE_Hipersensibilidade_0511.pdf	05/11/2018 13:14:22	Dayvison Francis Saraiva Freitas	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	05/11/2018 13:08:24	Dayvison Francis Saraiva Freitas	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Avenida Brasil 4365
Bairro: Marquinhos CEP: 21.040-360
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3865-0585 E-mail: cep@ini.fiocruz.br

INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS - INI / FIOCRUZ



Continuação do Parecer: 3.095.183

Não

RIO DE JANEIRO, 19 de Dezembro de 2018

Assinado por:
Léa Ferreira Camillo Coura
(Coordenador(a))

Dra. Luisele Guarniec
Vice Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa
Mat. SIAPE: 1539807
INI/FIOCRUZ

Endereço: Avenida Brasil 4365

Bairro: Manguinhos

CEP: 21.040-360

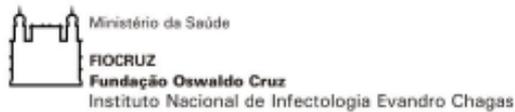
UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)3865-9585

E-mail: cep@ini.fiocruz.br

ANEXO B – Termo de compromisso e responsabilidade



TERMO DE COMPROMISSO E RESPONSABILIDADE

Eu, Dayvison Francis Saraiva Freitas, coordenador do projeto de pesquisa “Avaliação da casuística histórica de esporotricose humana com manifestações cutâneas de reação de hipersensibilidade do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, 1998 a 2018.”, comprometo-me em manter a confidencialidade e a privacidade dos participantes do projeto.

Os dados dos participantes e os resultados obtidos com este projeto serão mantidos em um banco de dados sob a minha responsabilidade, com identificação codificada, não nominal.

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

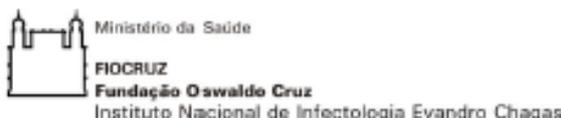
Por ser um estudo retrospectivo, muitos pacientes já não são mais contatáveis. Aqueles que o forem, serão convidados a comparecer ao INI para leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e respeitaremos o desejo dos que não concordarem em assinar, excluindo-os do estudo.

Rio de Janeiro, 05 / 11 / 2018.



Dayvison Francis Saraiva Freitas

ANEXO C – Pedido de autorização para dispensa de TCLE



PEDIDO DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPENSA DE APLICAÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

À Dra. Léa Camillo-Coura
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do INI

Solicito a V. Sa. a dispensa da aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) referente ao projeto de pesquisa intitulado **Avaliação da casuística histórica de esporotricose humana com manifestações cutâneas de reação de hipersensibilidade do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, 1998 a 2018.**

Trata-se de pesquisa retrospectiva com uso exclusivo de dados de prontuários ou registros de pacientes atendidos no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fiocruz, no período de 1998 a 2018.

Não serão citados nomes, números de prontuário ou similares em nenhuma publicação. O único risco envolvido é o de quebra de sigilo. Os pesquisadores envolvidos no projeto terão acesso aos dados dos pacientes e aos computadores da instituição por identificação e senha. Por ser estudo retrospectivo, os pacientes já não estão em acompanhamento no INI e a maioria mudou de endereço e/ou telefone de contato, inviabilizando o contato para convite a assinar TCLE e participar do estudo. Entretanto, para os pacientes contatáveis e que concordem em comparecer ao INI para ler o TCLE (em anexo), este será oferecido, explicado e respeitaremos o consentimento ou não do paciente para incluí-lo ou não no estudo como participante.

Não obstante, anexo ao presente o **Termo de Compromisso e Responsabilidade** assinado, comprometendo-me com o sigilo das informações obtidas referentes aos pacientes não contatáveis que, portanto, não assinaram o TCLE por não terem tido a oportunidade.

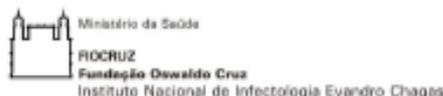
Atenciosamente,

Rio de Janeiro, 05 de novembro de 2018.



Dayvison Francis Saraiva Freitas
Pesquisador responsável

ANEXO D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)



Página 1/3

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

Projeto: "Avaliação da casuística histórica de esporotricose humana com manifestações cutâneas de reação de hipersensibilidade do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, 1998 a 2018."

A esporotricose é uma doença infecciosa causada por fungos, organismos semelhantes a bolores, chamados de forma genérica pelo nome de *Sporothrix* e atinge homens e animais. Esta doença geralmente só causa lesões na pele. Desde 1998, vem ocorrendo no Rio de Janeiro um grande número de casos de esporotricose transmitida por gatos. Algumas pessoas podem desenvolver, além da ferida da esporotricose, umas reações na pele, como uma espécie de alergia. Essas reações são chamadas de hipersensibilidade e podem ser classificadas como eritema nodoso (quando há caroços avermelhados dolorosos, geralmente nas pernas), eritema multiforme (placas avermelhadas com ou sem bolhas, que costumam coçar ou arder, geralmente no tronco e braços) e síndrome de Sweet (parecida com o eritema multiforme, mas a pessoa costuma ter mais febre e dor no corpo, além das placas ou pequenos caroços vermelhos, com pequenas pústulas ou bolhas em cima). Essas reações podem vir acompanhadas de outros sintomas e sinais, como dor no corpo, inchaço nas juntas, olhos vermelhos, febre e mal-estar, parecido com uma gripe. Além da própria esporotricose, remédios ou outras infecções ou inflamações podem ser causas de lesões de pele e sintomas semelhantes.

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa que tem como objetivo estudar as pessoas com esporotricose e que desenvolveram algum desses três tipos de reação. Pretendemos analisar as anotações no seu prontuário (pasta de papel ou no computador) para colher dados que consideramos importantes no estudo, como sexo, bairro de residência, idade, ocupação/profissão, tipo de contato provável para adquirir o fungo e ficar doente, remédios em uso e tipo de lesões da esporotricose e da reação de hipersensibilidade.

A sua participação no estudo não causará nenhuma mudança no seu acompanhamento, atendimento e tratamento, além de não ser obrigatória, mas voluntária. Você pode se recusar a participar da pesquisa ou, a qualquer momento, desistir de participar e retirar seu consentimento, sem que este fato cause qualquer constrangimento, penalidade ou prejuízo do atendimento. O pesquisador se obriga a não revelar seu nome, endereço ou qualquer informação que possa identificar você em qualquer texto resultante deste estudo, e também poderá interromper sua participação a qualquer tempo, por razões técnicas, como a incerteza quanto aos seus dados no prontuário. Os exames e procedimentos aplicados serão gratuitos, como para qualquer paciente atendido no Instituto.

Antes de assinar este termo, você deve se informar plenamente sobre ele, fazendo todas as perguntas que ache necessário. Devendo ficar esclarecido (a) quanto às informações que se seguem:

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

B) Sua participação neste estudo poderá não trazer benefícios diretos para você, mas você estará contribuindo para aumentar os conhecimentos sobre a esporotricose.

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

Rubrica do Participante: _____	Rubrica do Profissional que aplicou o termo: _____	Rubrica do Representante Legal (se aplicável): _____	Rubrica da Testemunha (se aplicável): _____
-----------------------------------	--	--	---

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

E) Por participar dessa pesquisa, seus registros médicos serão usados como fonte de dados para a condução do estudo, mas as informações obtidas serão confidenciais e asseguramos o sigilo da sua participação. Os resultados serão divulgados com fins científicos ou educativos de forma a não identificar você. Em caso de divulgação de fotos das suas lesões, tentaremos não expor o seu rosto e pediremos autorização por escrito para publicar as imagens, respeitando sua autorização ou não para mostrar as fotos. Caso ocorra uma quebra de sigilo não autorizada por você, é direito seu buscar indenização por eventuais danos decorrentes da pesquisa conforme a legislação brasileira. O Comitê de Ética em Pesquisa do INI pode ter acesso aos registros do estudo.

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

G) Você receberá uma via deste termo, em que constam o telefone e o endereço de trabalho do pesquisador responsável, podendo tirar dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou em qualquer momento.

_____, Data: ____/____/_____
Nome do Participante (letra legível)

Assinatura do Participante

_____, Data: ____/____/_____
Nome do Profissional que aplicou o termo (letra legível)

Assinatura do Profissional que aplicou o termo

_____, Data: ____/____/_____
Nome do Representante Legal (se aplicável e com letra legível)

Assinatura do Representante Legal (se aplicável)

Rubrica do Participante: _____	Rubrica do Profissional que aplicou o termo: _____	Rubrica do Representante Legal (se aplicável): _____	Rubrica da Testemunha (se aplicável): _____
-----------------------------------	--	--	---

Se este termo de consentimento tiver sido lido para o paciente (participante) porque ele é incapaz de ler o documento, uma testemunha imparcial e sem vínculo com a pesquisa ou com o pesquisador deve estar presente durante o consentimento e assinar a seguinte declaração: Declaro que as informações contidas no presente termo de consentimento e outras informações escritas foram explicadas ao paciente (participante) de maneira precisa e parecem ter sido por ele compreendidas. O paciente concordou em participar do estudo de livre e espontânea vontade.

_____, Data: ____/____/____
 Nome da Testemunha (se aplicável e com letra legível)

 Assinatura da Testemunha (se aplicável)

Se tiver alguma dúvida sobre a sua participação no estudo ou alguma outra dúvida sobre seus direitos como participante de pesquisa clínica, entre em contato com:

Dayvison Francis Saraiva Freitas MD, PhD (Médico Pesquisador Responsável)
 Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas - Fiocruz
 Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatologia Infecciosa
 Av. Brasil, 4365 Manguinhos, Rio de Janeiro – RJ, CEP 21040-900
 Telefones (dias úteis):
 (21) 3865-9506 – Coordenação de Atenção a Pacientes Externos - 8-12h
 (21) 3865-9578 – Escritório - 13-17h
 E-mail: dayvison.freitas@ini.fiocruz.br

O Comitê de Ética em Pesquisa do INI, órgão independente do estudo e que é responsável pela avaliação ética de todos os estudos realizados no instituto, será capaz de orientar e defender os seus interesses como participante da pesquisa. Em caso de dúvidas, você poderá consultá-lo:
 Comitê de Ética em Pesquisa, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fiocruz
 Av. Brasil, 4365 – Manguinhos, Rio de Janeiro – RJ, CEP 21040-900
 Telefone: (21) 3865-9585 (Dias úteis: 8 às 17h) - E-mail: cep@ini.fiocruz.br

Rubrica do Participante: _____	Rubrica do Profissional que aplicou o termo: _____	Rubrica do Representante Legal (se aplicável): _____	Rubrica da Testemunha (se aplicável): _____
-----------------------------------	--	--	---