

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



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

ALESSANDRA VIEIRA PEREIRA

**TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE FELINA COM A CRIOCIRURGIA
ASSOCIADA AO ITRACONAZOL ORAL**

Rio de Janeiro

2016

TESE DP CDI- INI

A.V. PEREIRA

2016

ALESSANDRA VIEIRA PEREIRA

**TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE FELINA COM A CRIOCIRURGIA
ASSOCIADA AO ITRACONAZOL ORAL**

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

Orientadores: Prof. Dr. Sandro Antonio Pereira
e Prof.^a Dr.^a Tania Maria Valente Pacheco.

Rio de Janeiro

2016

Pereira, Alessandra Vieira.

Tratamento da esporotricose felina com a criocirurgia associada ao itraconazol oral / Alessandra Vieira Pereira. - Rio de Janeiro, 2016.
67 f.; il.

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

Orientador: Sandro Antonio Pereira.

Co-orientadora: Tânia Maria Valente Pacheco.

Bibliografia: f. 55-67

1. felino. 2. tratamento . 3. esporotricose . 4. itraconazol. 5. criocirurgia .
I. Título.

ALESSANDRA VIEIRA PEREIRA

**TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE FELINA COM A CRIOCIRURGIA
ASSOCIADA AO ITRACONAZOL ORAL**

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

BANCA EXAMINADORA

Dr. Fabiano Borges Figueiredo

Doutor em:

Instituto:

Dra. Denise Torres da Silva

Doutora em:

Instituto:

Dra. Luisa Helena Monteiro de Miranda

Doutor em:

Instituto:

Dr. Rodrigo Caldas Menezes

Doutor em:

Instituto:

Dr. Jeferson Carvalhaes de Oliveira

Doutor em:

Instituto:

Aos meus amados filhos João Pedro e Bernardo
dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, que sempre me apoiaram e acreditaram em meus sonhos.

À toda minha família, pelo amor e confiança em mim depositados, em especial à minha irmã, Cláudia, que sempre me apoiou nos momentos difíceis.

Aos meus filhos, pelo amor e compreensão por minha ausência nesses anos de dedicação ao trabalho.

Ao meu marido, Daniel, por todo apoio amor, carinho e compreensão todos esses anos.

À minha irmã de coração Monica Daiha, por toda sua paciência e amizade e imensa ajuda neste trabalho, por sempre acreditar em meu trabalho e estar sempre ao meu lado.

À minha amiga-irmã Beatriz Tavares de Macedo Peixoto, por me incentivar nos momentos difíceis, por estar sempre ao meu lado com palavras certas e sensatas.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Sandro Antônio Pereira e Prof.^a Dr.^a Tania Maria Valente Pacheco, pelo apoio e valiosas considerações.

À Dr.^a Isabella Dib Gremião, pela ajuda, apoio e essenciais considerações no trabalho.

À Dr.^a Luiza Helena Miranda, pelas correções e considerações.

À amiga Elaine Albuquerque, pela imensa ajuda, apoio, amizade em todos os momentos.

Aos amigos e funcionários do Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (LAPCLIN-DERMZOO) – INI/Fiocruz e demais colegas da Fiocruz, pelos anos de convívio e auxílio prestado durante a realização do estudo.

Aos gatos e seus responsáveis que fizeram parte do estudo, meu respeito e gratidão.

A todos que de alguma maneira me ajudaram, mesmo que sem notar.

PEREIRA, A.V. **Tratamento da esporotricose felina com a criocirurgia associada ao itraconazol oral.** Rio de Janeiro, 2015. 65f. Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

RESUMO

A esporotricose é uma micose de implantação causada por espécies do complexo *Sporothrix schenckii* que acomete seres humanos e diversas espécies animais, incluindo os gatos. Clinicamente, a esporotricose felina varia desde uma infecção subclínica, passando por lesão cutânea única até formas múltiplas e sistêmicas fatais. O diagnóstico definitivo dessa micose é obtido pelo isolamento do fungo em meios de cultura. O itraconazol é considerado o fármaco de escolha para o tratamento da esporotricose felina, entretanto, alguns casos não apresentam resposta clínica satisfatória. A criocirurgia é indicada no tratamento de dermatopatias inflamatórias e neoplásicas na medicina humana e veterinária. No entanto, estudos sobre a utilização dessa técnica como tratamento adjuvante nas micoses em seres humanos e animais são escassos. O objetivo deste estudo foi avaliar o uso da criocirurgia em lesões cutâneas felinas causadas por *Sporothrix* spp., associada ao itraconazol oral. Realizou-se um estudo interventivo não controlado, cuja população foi constituída por 28 gatos com esporotricose assistidos na Fiocruz no período de 2012 a 2015. Os gatos foram submetidos ao exame clínico, documentação fotográfica, coleta de amostras biológicas e a uma sessão de criocirurgia utilizando nitrogênio líquido como criógeno, na técnica de spray aberto com dois ciclos de congelamento-descongelamento. Adicionalmente, a terapia com itraconazol oral 100 mg/gato/dia foi mantida até o desfecho. A maioria dos gatos era macho, adulto e todos sem raça definida. A úlcera foi o tipo de lesão cutânea predominantemente submetida à criocirurgia (n=22; 78,6%), e os pavilhões auriculares, a localização mais frequente (n=10; 35,7%). Em relação aos gatos incluídos, sete (25%) eram virgens de tratamento e 21 (75%) faziam uso de itraconazol. Dentre os animais sob tratamento com itraconazol, 7 (33,3%) eram refratários e 14 (67,7%) não refratários. A cicatrização total das lesões após a criocirurgia ocorreu em 10 gatos (71,4%), e a cicatrização parcial em quatro gatos (28,6%) do grupo não refratário. No grupo dos gatos virgens, a cicatrização total ocorreu em quatro gatos (57,1%), e a cicatrização parcial em três gatos (42,9%). No grupo refratário, a cicatrização total das lesões após a criocirurgia ocorreu em dois gatos (28,6%), parcial em dois gatos (28,6%), e ausência de cicatrização em três gatos (42,9%). Os efeitos adversos clínicos relacionados ao itraconazol foram observados em 13 (46,4%) gatos, principalmente o emagrecimento relacionado à hiporexia (n=4; 30,7%). Os efeitos adversos relacionados à criocirurgia foram observados em oito gatos (28,6%), como a leucotriquia (n=3; 10,7%) e a perda tecidual considerável (n=3; 10,7%). Dos 28 gatos incluídos, 15 (53,5%) obtiveram a cura clínica como desfecho, e o tempo mediano de tratamento com itraconazol oral após a sessão de criocirurgia nesses gatos foi 12 semanas. De acordo com os resultados obtidos neste estudo, concluiu-se que o protocolo terapêutico proposto é uma opção viável nos casos de esporotricose felina que apresentam poucas lesões cutâneas.

Palavras-chave: Gatos. Esporotricose. Tratamento. Itraconazol. Criocirurgia. Terapia adjuvante.

Pereira, A.V. **Treatment of feline sporotrichosis with cryosurgery combined with oral itraconazole.** Rio de Janeiro, 2015. 65f. Thesis [PhD in Clinical Research in Infectious Diseases] – Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases.

ABSTRACT

Sporotrichosis is an implantation mycosis caused by *Sporothrix schenckii* species complex which infects a variety of species including humans and cats. Clinically, feline sporotrichosis varies from a subclinical infection that can progress to multiple skin lesions and even fatal systemic involvement. The definitive diagnosis of this mycosis is obtained by the fungal isolation in culture media. Itraconazole has been considered the drug of choice for feline sporotrichosis treatment. However, the outcome can be unsatisfactory in some cases. Cryosurgery is indicated for the treatment of inflammatory and neoplastic skin diseases in human and animal medicine. However, there are few studies related to cryosurgery for mycosis in humans and animals. The aim of this study was to evaluate the use of cryosurgery in skin lesions caused by *Sporothrix* spp., in combination with oral itraconazole. An uncontrolled intervention study was conducted, comprising a population of 28 cats, which were diagnosed with sporotrichosis and followed up at Fiocruz, between 2012 and 2015. The cats were submitted to clinical examination, photographic documentation and sample collection. One cryosurgery session with two freeze-thaw cycles was performed and open spray was the used technique. Additionally, oral itraconazole 100 mg/cat/day was maintained until outcome. Most cats included in the study were adult and male and all cats were mongrel. Ulcer was the main skin lesion submitted to cryosurgery (n=22; 78.6%) and lesions were located especially on pinna (n=10; 35.7%). As for the cats included, 7 (25%) of them were treatment-naïve and 21 (75%) were under itraconazole treatment. Among the cats under itraconazole treatment, 7 (33.3%) of them were refractory and 14 (67.7%) were non-refractory. The total healing of the lesions after cryosurgery occurred in 10 cats (71.4%) and the partial healing in four cats (28.6%) in the non-refractory group. In the group of virgin cats, total healing occurred in four cats (57.1%) and the partial healing in three cats (42.9%). In the refractory group, the total healing of lesions after cryosurgery occurred in two cats (28.6%), the partial healing in two cats (28.6%) and absence of healing in three cats (42.9%). The adverse clinical effects related to itraconazole were observed in 13 (46.4%) cats, mainly weight loss related to hypoxia (n = 4; 30.7%). Adverse clinical effects related to itraconazole treatment were observed in 13 cats (46.4%), mainly weight loss associated with hyporexia (n=4; 30,7%). Adverse clinical effects related to cryosurgery were observed in eight cats (28,6%), as leucotriquia (n=3; 10,7%) and substantial loss of tissue (n=3; 10,7%). Among 28 studied cats, 15 (53.5%) achieved clinical cure and median time of itraconazole treatment was 12 weeks. According to the results found in this study, it is concluded that the proposed therapeutic regimen is a viable option for cats with sporotrichosis presenting few skin lesions.

Keywords: Cats. Sporotrichosis. Treatment. Itraconazole. Cryosurgery. Adjunctive therapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Aparelho de criocirurgia e criógeno.....	39
Figura 2. Frequências das localizações topográficas das lesões cutâneas submetidas à criocirurgia, nos 28 gatos com esporotricose provenientes da região metropolitana do Rio de Janeiro, atendidos no período de março de 2012 a outubro de 2015.....	43
Figura 3. Gatos submetidos à criocirurgia.....	44
Figura 4. Distribuição dos efeitos adversos relacionados à criocirurgia, nos 28 gatos com esporotricose.....	48
Figura 5. Sequelas associadas à criocirurgia em gatos com esporotricose.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Avaliação da cicatrização das lesões um mês após a criocirurgia, no grupo dos gatos com esporotricose virgens de tratamento.....	45
Tabela 2. Avaliação da cicatrização das lesões um mês após a criocirurgia, em gatos com esporotricose não refratários ao tratamento, com exceção dos virgens de tratamento.....	45
Tabela 3. Avaliação da cicatrização um mês após a criocirurgia, no grupo dos gatos com esporotricose refratários ao tratamento.....	45
Tabela 4. Frequência dos efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol quanto à realização ou não de tratamento prévio, nos 28 gatos com esporotricose.....	46
Tabela 5. Frequência dos efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol quanto à refratariedade, nos 28 gatos com esporotricose.....	46
Tabela 6. Frequência dos efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol no grupo de sete gatos com esporotricose, virgens de tratamento.....	46
Tabela 7. Frequência dos efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol no grupo de 21 gatos com esporotricose, com tratamento prévio.....	47
Tabela 8. Frequência dos efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol no grupo de gatos com esporotricose, com tratamento prévio e não refratário.....	47
Tabela 9. Desfecho do tratamento em 28 gatos com esporotricose submetidos à criocirurgia associada ao tratamento com itraconazol de acordo com a cicatrização das lesões um mês após a criocirurgia.....	49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 ESPOROTRICOSE	13
1.2 HISTÓRICO	13
1.3 COMPLEXO <i>Sporothrix schenckii</i>	14
1.4 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	16
1.5 ESPOROTRICOSE FELINA	17
1.6 ASPECTOS ZONÓTICOS	18
1.7 DIAGNÓSTICO	19
1.8 ASPECTOS TERAPÊUTICOS	21
1.8.1 Iodetos	21
1.8.2 Cetoconazol	22
1.8.3 Itraconazol	23
1.8.4 Fluconazol	23
1.8.6 Anfotericina B	24
1.8.7 Termoterapia	24
1.8.8 Cirurgia	24
1.8.9 Criocirurgia	25
2 JUSTIFICATIVA	32
3 OBJETIVOS	33
3.1 OBJETIVO GERAL	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4 METODOLOGIA	34
4.1 DESENHO DO ESTUDO	34
4.2 DEFINIÇÃO DOS TERMOS UTILIZADOS NESTE ESTUDO	34
4.3 CASUÍSTICA	35
4.3.1 População de estudo	35
4.4 AMOSTRA	35
4.5 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	35
4.5.1 Critérios de inclusão	35
4.5.2 Critérios de exclusão	36
4.6 PROCEDIMENTOS DO ESTUDO	36
4.6.1 Procedimentos de inclusão e acompanhamento	36
4.6.1 Consulta de inclusão	37

<u>4.6.1.1 Exame Físico</u>	37
<u>4.6.1.2 Sedação</u>	37
<u>4.6.1.3 Diagnóstico laboratorial</u>	37
<u>4.6.1.4 Boas práticas relacionadas à biossegurança</u>	38
<u>4.6.1.5 Protocolo terapêutico com itraconazol oral</u>	38
<u>4.6.1.6 Procedimento criocirúrgico</u>	39
<i>4.6.1.6.1 Aparelho de criocirurgia e criógeno</i>	37
<i>4.6.1.6.2 Aplicação do criógeno (nitrogênio líquido)</i>	38
4.7 Seguimento terapêutico.....	40
4.7.1 Plano de Análise dos dados.....	41
4.7.2 Aspectos Éticos	41
5 RESULTADOS	42
6 DISCUSSÃO	50
7 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

1.1 ESPOROTRICOSE

A esporotricose é uma micose de implantação subaguda a crônica geralmente limitada aos tecidos cutâneo e subcutâneo, embora possa ocorrer comprometimento linfático adjacente e assumir, em alguns casos, uma forma disseminada (KWON-CHUNG; BENNET, 1992; KAUFFMAN, 1999). Acomete os seres humanos e uma grande variedade de animais, tais como equídeos, cães, gatos, raposas, bovinos, suínos, camelos, ratos, camundongos e chipanzés (RIPPON, 1988; SCHUBACH et al., 2012).

A infecção pode ocorrer diretamente pela inoculação traumática do agente etiológico na derme através de fragmentos vegetais ou material orgânico de solo contaminado com conídios e hifas de *Sporothrix* (RIPPON, 1988; KWON-CHUNG; BENNET, 1992), e indiretamente, pelo contato da pele lesada com matéria orgânica ou solo contaminados com o fungo (CONTI-DIAZ, 1989). Em casos de esporotricose pulmonar, o modo de transmissão é presumivelmente a inalação de conídios (KAUFFMAN, 1999).

A transmissão zoonótica do fungo através de arranhadura, mordedura ou o contato com o exsudato das lesões de gatos infectados é relevante devido ao grande número de casos descritos no Brasil (BARROS et al., 2011; PEREIRA et al., 2014; GREMIÃO et al., 2015).

1.2 HISTÓRICO

O primeiro caso comprovado de esporotricose humana foi descrito em 1898 por Benjamin Schenck em Baltimore, Estados Unidos. O fungo foi isolado de um paciente apresentando lesão linfangítica no membro superior direito, sendo classificado no gênero *Sporotrichum* (SCHENCK, 1898).

Em 1900, também nos Estados Unidos, Hektoen e Perkins (1900) relataram a doença em um menino que desenvolveu uma úlcera, nódulos e linfangite secundária a um ferimento causado por uma martelada no dedo indicador. O agente foi isolado e denominado de *Sporothrix schenckii*.

Em 1903, foi observado o primeiro caso de esporotricose na França e relatada a utilização de iodeto de potássio como tratamento (DE BEURMANN; RAMOND, 1903). O fungo isolado foi chamado *Sporotrichum beurmanni* por Matruchot e Ramond, em 1905 (RIPPON, 1988).

Entre 1906 e 1912, De Beurmann e Gougerot (1912) reuniram cerca de 200 casos humanos de esporotricose e realizaram uma revisão da literatura, na qual foram descritas as principais formas clínicas e a terapêutica dessa micose. No Brasil, Lutz e Splendore (1907) relataram os primeiros casos em animais e descreveram cinco casos da doença em humanos em São Paulo, assim como o tratamento dos casos humanos com iodeto de potássio.

Em 1912, Terra e Rabelo descreveram o primeiro caso humano no Rio de Janeiro (DONADEL et al., 1993). Já Leão e colaboradores (1934) descreveram o primeiro caso de esporotricose animal nessa região em uma mula.

Singer e Muncie (1952) descreveram um caso humano relacionado ao manuseio de um gato com esporotricose. Este foi o primeiro relato de transmissão zoonótica comprovada e também a primeira citação de esporotricose felina na literatura.

A primeira ocorrência de esporotricose felina no Brasil foi relatada por Freitas et al. (1956). Uma série de oito casos felinos foi publicada pelos mesmos autores alguns anos depois (FREITAS et al., 1965). Em 1986, Dunstan et al. (1986) publicaram a maior casuística, envolvendo humanos e gatos, até a década de 1980.

No início dos anos 1980 (CRUZ, 2013) e no final dos anos 1990 (BARONI et al., 1998), foram relatados casos isolados de esporotricose felina no Rio de Janeiro. Desde 1998, o Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), unidade da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) localizada no Rio de Janeiro, RJ, vem acompanhando, na região metropolitana do Rio de Janeiro, a primeira epidemia associada à transmissão zoonótica envolvendo gatos como fonte de infecção (BARROS et al., 2008b).

1.3 COMPLEXO *Sporothrix schenckii*

O agente etiológico da esporotricose é *Sporothrix schenckii*, um fungo dimórfico, anamórfico, e alguns estudos sugerem a possibilidade de sua forma sexuada ser *Ophiostoma* sp (KIRK et al., 2008). Durante décadas, pensou-se se tratar de uma única espécie, entretanto, estudos fenotípicos e moleculares baseados nas análises da sequência de síntese de quitina, β -

tubulina e calmodulina sugeriram que o *S. schenckii* constitui um complexo de pelo menos seis espécies, discriminadas filogeneticamente como *S. brasiliensis*, *S. schenckii*, *S. globosa*, *S. mexicana*, *S. pallida* e *S. luriei* (MARIMON et al., 2006; MARIMON et al., 2007; MARIMON et al., 2008; RODRIGUES et al., 2014). Pela análise filogenética dos isolados provenientes de gatos, Rodrigues e colaboradores (2013) descreveram que o *S. brasiliensis* é o agente etiológico mais prevalente entre os gatos doentes no Brasil.

Sporothrix spp. são geralmente encontradas em estado de saprofitismo em substratos vegetais, quando em condições favoráveis de temperatura e umidade (RIPPON, 1988). O fungo cresce no ambiente na temperatura entre 22°C e 25°C e 90% de umidade e já foi isolado em espinhos, feno, palha, musgo do esfagno, madeira e solo rico em matéria orgânica em decomposição (KAUFFMAN, 1999). O material orgânico possivelmente auxilia em seu desenvolvimento (CHAKRABARTI et al., 2015).

Ademais, o fungo requer um solo rico em celulose, temperatura em torno de 30°C, pH entre 3,5 e 9,4 e alta umidade. No entanto, o nicho ecológico de *S. schenckii* não é totalmente compreendido, visto que a esporotricose é descrita em áreas onde as temperaturas não ultrapassam 6°C, como, por exemplo, na província de Jilin, na China (CHAKRABARTI et al., 2015).

Na natureza ou em meio de cultura a 25°C, cresce na forma filamentosa, enquanto que em parasitismo ou em meio de cultura, a 37°C, encontra-se na forma de levedura (KWON-CHUNG; BENNET, 1992). As colônias filamentosas crescem inicialmente com coloração branca, acinzentada ou creme, que, ao formarem conídios escuros, vão gradativamente assumindo coloração marrom e preta da periferia para o centro. Na forma parasitária ou em cultivo incubado a 37°C, observam-se colônias lisas e úmidas, de coloração bege-amarelada e aspecto cremoso (RIPPON, 1988; KWON-CHUNG; BENNET, 1992).

Embora os fatores de virulência deste fungo não estejam completamente elucidados, parecem estar relacionados à produção de melanina e de proteinases extracelulares, à termotolerância e à presença de componentes lipídicos em sua parede celular (KAUFFMAN, 1999; SCHUBACH et al., 2005; LOPES-BEZERRA et al., 2006). A melanina é um importante fator de virulência em diversos fungos patogênicos. A presença desse pigmento na parede celular do fungo aumenta a sua sobrevivência no ambiente e em condições de parasitismo, bem como o protege contra Anfotericina B e oxidantes derivados de nitrogênio.

Todas as formas morfológicas são capazes de produzir pelo menos um dos três tipos de melanina (DHN-melanina, eumelanina e piomelanina). A termotolerância é um fator fundamental para a sobrevivência do *Sporothrix* spp no hospedeiro. Recentemente, foi

demonstrado que o *S. brasiliensis* expressa a melanina, protease e urease e que esses fenótipos estão relacionados com as manifestações clínicas da esporotricose (ALMEIDA-PAES et al., 2015).

1.4 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A esporotricose apresenta distribuição geográfica universal, ocorrendo principalmente em regiões de clima tropical e tropical úmido. Atualmente, é rara na Europa e frequente na África, no Japão, na China e nas Américas (CHAKRABARTI et al., 2015). É a micose subcutânea mais comum na América Latina (COSTA et al., 1994), principalmente no Brasil (SCHUBACH et al., 2008).

Epidemias de esporotricose envolvendo um elevado número de casos ou amplas áreas geográficas são raras e geralmente estão relacionadas a uma fonte de infecção comum (DIXON et al., 1991; BUSTAMANTE; CAMPOS, 2004). A primeira grande epidemia de esporotricose humana ocorreu na década de 1940 na África do Sul, onde aproximadamente 3.000 casos foram registrados em trabalhadores de minas de ouro. O fungo foi encontrado como saprófita na madeira de sustentação dos túneis das minas. A epidemia foi erradicada pelo tratamento dos pacientes com iodeto de potássio e aplicação de fungicida no interior das minas (RIPPON, 1988).

Nos Estados Unidos, o maior surto da doença ocorreu na década de 1980, envolvendo 84 indivíduos e foi relacionado ao contato com o musgo do esfagno contaminado (DIXON et al., 1991). No México, especialmente no estado de Jalisco, foram registrados 133 casos da doença em crianças e adolescentes que tiveram contato com solo contaminado em área rural (GARCÍA-VARGAS et al., 2008; CHAKRABARTI et al., 2015).

Desde 1998, na região metropolitana do Rio de Janeiro, vem ocorrendo uma epidemia de esporotricose relacionada aos gatos, sendo a primeira sob a forma de zoonose, na qual este animal exerce um papel importante como fonte de infecção. Ao contrário do que ocorre na forma clássica de transmissão, na qual o ser humano manipula ou interfere no habitat de *Sporothrix* spp em suas atividades ocupacionais ou de lazer, na forma zoonótica provavelmente é o fungo que entra no ambiente doméstico através dos gatos (BARROS et al., 2011; PEREIRA et al., 2014; GREMIÃO et al., 2015).

1.5 ESPOROTRICOSE FELINA

Gatos adultos jovens, machos, não castrados e com acesso irrestrito ao ambiente extradomiciliar são os mais acometidos por este fungo, e suas características comportamentais, como esfregar-se no solo, afiar as garras em árvores e madeiras, seu instinto de caça, suas incursões além de seus limites domiciliares e seus hábitos higiênicos, entre os quais o ato de lambe-se e de enterrar suas fezes, expõem esses animais a infecções e os possibilitam infectar outros animais e os seres humanos pela esporotricose (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2014, MONTENEGRO et al., 2014).

Os gatos são extremamente susceptíveis à infecção por este fungo. A alta susceptibilidade dessa espécie é evidenciada pela riqueza de elementos fúngicos observados e pela baixa frequência de granulomas bem formados (MIRANDA et al., 2013). Em estudo recente, demonstrou-se que a riqueza de elementos fúngicos encontrada nos gatos foi relacionada ao aumento de células CD8⁺ e ao aumento da expressão de CD8 em seu sangue periférico (MIRANDA et al., 2016).

A esporotricose felina apresenta um amplo espectro clínico, variando desde uma infecção subclínica, passando por lesões cutâneas únicas ou múltiplas a formas sistêmicas geralmente fatais. A classificação das formas clínicas descritas para seres humanos é difícil de ser extrapolada para os gatos. Essa dificuldade está relacionada geralmente à presença de múltiplas lesões cutâneas, em mucosas, e à presença de sinais extracutâneos (SCHUBACH et al., 2004). Ainda, em muitas situações, o gato pode apresentar mais de uma forma clínica simultaneamente (PEREIRA et al., 2009; SCHUBACH et al., 2012).

As lesões cutâneas observadas nos gatos são pápulas, nódulos, gomas, erosões, úlceras e crostas (MULLER et al., 2013). Extensas áreas de necrose podem se desenvolver, e a exposição muscular e óssea podem ser observadas (BURKE et al., 1982). As lesões localizam-se preferencialmente na cabeça e extremidades, principalmente em região nasal, membros, cauda e bolsa escrotal (SCHUBACH et al., 2004). Os sinais extracutâneos incluem a linfadenomegalia e principalmente as manifestações respiratórias, tais como espirros, secreção nasal aquosa à sanguinolenta e dispneia inspiratória (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2010). Nesse sentido, estudos sugerem que a presença desses sinais pode preceder à observação de lesões cutâneas em gatos (SCHUBACH et al., 2004).

As alterações hematológicas e bioquímicas descritas em gatos com esporotricose são inespecíficas. Anemia, leucocitose com neutrofilia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia,

aumento dos níveis séricos de creatinina, ureia, alanino-aminotransferase e aspartato-transaminase foram relatados principalmente em gatos com múltiplas lesões cutâneas (SCHUBACH et al., 2004).

Em gatos, é comum observar lesões cutâneas disseminadas, além de sinais respiratórios que podem indicar o envolvimento sistêmico, diferente do que ocorre no ser humano (SCHUBACH et al., 2004; BARROS et al., 2011). A forma sistêmica da esporotricose em seres humanos é rara e acomete principalmente indivíduos imunocomprometidos (BARROS et al., 2011).

Autores sugerem que nos gatos, assim como nos seres humanos, a imunodeficiência possa ter um papel importante na gravidade da doença e na necessidade de tratamento prolongado (DAVIES; TROY, 1996). No entanto, em gatos com esporotricose coinfectados ou não com os vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e da Leucemia Felina (FeLV), não foram observadas diferenças significativas na resposta terapêutica aos azólicos, bem como em relação à gravidade da doença e aos parâmetros imunológicos verificados até o momento (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2010; REIS et al., 2012; MIRANDA et al., 2016).

1.6 ASPECTOS ZOONÓTICOS

Os gatos são os principais animais envolvidos na transmissão de *Sporothrix* sp. ao ser humano (BARROS et al., 2011). O potencial zoonótico da esporotricose felina é reconhecido desde a década de 1980, quando Read e Sperling (1982) descreveram um surto envolvendo cinco pessoas expostas a um gato com a micose. Posteriormente, foram descritos outros surtos domiciliares ou profissionais abrangendo felinos, seus tutores, médicos veterinários e/ou seus auxiliares (READ; SPERLING, 1982; LARSSON et al., 1989; MARQUES et al., 1993; WERNER; WERNER, 1994; NOBRE et al., 2001; BARROS et al. 2002; MADRID et al., 2009).

Os dois primeiros casos de esporotricose humana relacionados a gatos doentes diagnosticados no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) ocorreram, respectivamente, em 1994 e 1997. No período de 1998 a 2004, na região metropolitana do Rio de Janeiro, a epidemia de esporotricose afetou 759 humanos, 1.503 gatos e 64 cães (SCHUBACH et al., 2008). No período de 2005 a 2008, 804 pacientes humanos foram diagnosticados com esporotricose, correspondendo a um aumento

anual de 85% (FREITAS et al., 2010). No período de janeiro de 2005 a dezembro de 2011, foram diagnosticados 2.301 gatos com a doença (PEREIRA et al., 2014). No intervalo de janeiro até dezembro de 2012, 320 novos casos felinos foram diagnosticados (GREMIÃO et al., 2015).

O gato pode ser considerado o único animal próximo ao ser humano que oferece um alto risco de transmissão de *Sporothrix* spp. (DUNSTAN et al., 1986). Esse elevado potencial zoonótico deve-se à riqueza parasitária encontrada nas lesões cutâneas dos felinos (SCHUBACH et al., 2004).

O isolamento de *S. schenckii* proveniente das cavidades nasal e oral, fragmentos de unhas, exsudato de lesões cutâneas e mucosas, órgãos internos e sangue de gatos (SCHUBACH et al., 2001; SCHUBACH et al., 2003a; SCHUBACH et al., 2003b; SCHUBACH et al., 2004) associado aos relatos de casos humanos de esporotricose (SCHUBACH et al., 2008) demonstram a importância dessa espécie como fonte de infecção (BARROS et al., 2004b).

1.7 DIAGNÓSTICO

A esporotricose é diagnosticada pela correlação dos aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais (BARROS et al., 2011). Os exames laboratoriais descritos no diagnóstico dessa micose incluem: cultura micológica, exame citopatológico, histopatologia, imunohistoquímica, sorologia e reação em cadeia da polimerase (BARROS et al., 2011, PEREIRA et al., 2011; FERNANDES et al., 2011; MIRANDA et al., 2013; RODRIGUES et al., 2015; GREMIÃO et al., 2015).

O diagnóstico definitivo baseia-se no isolamento e na identificação de *Sporothrix* spp. em meios de cultura (RIPPON, 1988). Diferentes amostras biológicas podem ser coletadas dependendo do tipo e da localização da lesão (SCHUBACH et al., 2002). Secreção nasal e exsudato de lesões cutâneas ou mucosas podem ser obtidos por meio de um *swab* estéril (SCHUBACH et al., 2003b). Ainda podem ser enviados para o cultivo fragmentos de lesões cutâneas ou mucosas obtidos por biópsia (SCHUBACH, et al., 2012), aspirado do conteúdo purulento ou seropurulento proveniente de abscesso não ulcerado, sangue (SCHUBACH et al., 2003a) e lavado broncoalveolar (LEME et al., 2007).

A cultura pode ser realizada inicialmente em meio de ágar Sabouraud dextrose ou ágar Mycosel a 25°C. Após o crescimento do fungo na forma filamentosa, ele é inoculado em meio

de infusão de cérebro e coração (BHI) a 37°C visando à conversão para a forma de levedura (RIPPON, 1988).

Os exames citopatológico e histopatológico são úteis no diagnóstico presuntivo dessa micose nos felinos (PEREIRA et al., 2011; MIRANDA et al., 2013; SILVA et al., 2015). Testes sorológicos do tipo ELISA para detecção de anticorpos anti-*S. schenkii* específicos no soro dos gatos demonstraram sensibilidade (96%) e especificidade (98%) altas para o diagnóstico da esporotricose felina, mas sua aplicação na rotina diagnóstica ainda não foi estabelecida (FERNANDES et al., 2011). Outro estudo sugere que a quantificação de IgG anti-*S. brasiliensis* pelo ELISA é extremamente sensível para a detecção da esporotricose felina (RODRIGUES et al., 2015).

Os elementos fúngicos são geralmente numerosos em gatos, ao contrário do que comumente é observado em outras espécies animais. Em virtude dessa riqueza parasitária observada em muitos casos, a avaliação citológica conduz a um diagnóstico presuntivo da esporotricose felina (CLINKENBEARD, 1991; COWELL et al., 2008; PEREIRA et al., 2011). É um exame de simples execução, de baixo custo e rápido, que pode ser usado rotineiramente em estabelecimentos veterinários no diagnóstico presuntivo da doença (PEREIRA et al., 2011). A alta sensibilidade (84,9%) desse teste no diagnóstico da esporotricose em gatos foi demonstrada recentemente (SILVA et al., 2015).

Para a realização do exame histopatológico, podem ser avaliados fragmentos de lesões cutâneas ou mucosas, obtidos através de biópsia (SCHUBACH et al., 2003b). Os métodos de coloração utilizados são: hematoxilina-eosina (HE), ácido periódico de Schiff e impregnação pela prata de Grocott, sendo as duas últimas técnicas especiais apropriadas para a visualização de fungos (MIRANDA et al., 2013).

Ao exame histopatológico, as lesões cutâneas dos gatos revelam um infiltrado inflamatório na derme composto por células mononucleares e polimorfonucleares, predominantemente macrófagos e neutrófilos. Podem ser observadas numerosas estruturas leveduriformes redondas, ovais ou em forma de charuto, algumas vezes exibindo brotamento, com diâmetro entre 5 µm e 7 µm, sugestivas de *Sporothrix* spp. (SCHUBACH et al., 2003b). Miranda et al. (2013) descreveram a presença frequente de granulomas malformados associados à alta carga fúngica em lesões cutâneas de gatos, demonstrando a alta susceptibilidade destes animais à infecção por *Sporothrix* spp.

O diagnóstico diferencial da esporotricose felina inclui as infecções bacterianas, outras infecções fúngicas, como, por exemplo, a criptococose, feohifomicose e a histoplasmose, neoplasias, tais como carcinomas e mastocitoma, doenças imunomediadas, alergopatias

(WELSH, 2003; MULLER et al., 2013) e a leishmaniose tegumentar americana (SILVA et al., 2010).

1.8 ASPECTOS TERAPÊUTICOS

O tratamento de infecções micóticas subcutâneas e sistêmicas em animais é em algumas situações um desafio aos médicos veterinários, principalmente na espécie felina. As opções terapêuticas para o tratamento da esporotricose em gatos são restritas a poucos fármacos.

A utilização de iodetos de sódio e potássio, anfotericina B, cetoconazol, itraconazol, fluconazol e terbinafina foi descrita (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2009; GREMIÃO et al, 2015), no entanto, todos os fármacos apresentam efeitos adversos (WELSH, 2003; SCHUBACH et al., 2004, PEREIRA et al., 2010; GREMIÃO et al., 2011; REIS et al., 2012; MULLER et al., 2013). Associadas a essas limitações, a dificuldade na administração oral de medicamentos aos gatos, a falta de condições para mantê-los confinados, além da dificuldade para transportar os animais em veículos coletivos podem explicar parcialmente o grande percentual de abandonos (38,5%) relatados (CHAVES et al, 2012). Além disso, a aquisição da doença por um membro da família e o longo tempo de tratamento são fatores que também levam ao frequente abandono do tratamento e à requisição de eutanásia pelo responsável do gato (SCHUBACH et al., 2004; CHAVES et al., 2012).

1.8.1 Iodetos

O iodeto de potássio vem sendo utilizado no tratamento dessa micose desde o início do século XX (DE BEURMANN; RAMOND, 1903). Embora seu mecanismo de ação ainda seja desconhecido, acredita-se que ocorra proteólise e fagocitose do agente etiológico. O fármaco mostra-se efetivo nos casos de pacientes humanos com lesões cutâneas e linfocutâneas (KAUFFMAN et al., 2007).

Os gatos são muito sensíveis às preparações de iodetos, podendo ser observados sinais de iodismo, os quais incluem anorexia, vômitos, hipotermia e colapso cardiovascular, entre outros (BURKE et al., 1982; WERNER; WERNER, 1994). Em alguns casos, os gatos não

respondem adequadamente ao tratamento com iodetos, apresentando piora do quadro clínico, que pode culminar em óbito (NOBRE et al., 2001). Tal fato levou à substituição destes compostos por antifúngicos mais seguros e efetivos, como o itraconazol (WELSH, 2003).

Recentemente, foi descrito o uso do iodeto de potássio em cápsulas (2,5-20 mg/kg a cada 24 horas) no tratamento da esporotricose em 48 gatos. A cura clínica foi obtida em 48% dos casos, e os efeitos adversos gastrointestinais foram observados em 52% dos animais. Os autores desse estudo concluíram que o iodeto de potássio em cápsulas é uma opção terapêutica efetiva nos casos de esporotricose felina (REIS et al., 2012). A associação do itraconazol oral (100 mg/gato/dia) e iodeto de potássio (2,5-20 mg/kg/dia) foi recentemente descrita para tratamento da esporotricose felina com a taxa de cura de 96,15% e tempo mediano de tratamento de 14 semanas. Nesse estudo, 50% dos gatos apresentaram efeitos adversos (REIS et al., 2016).

1.8.2 Cetoconazol

O cetoconazol é um derivado imidazólico que possui um amplo espectro de atividade antifúngica. Desde o seu desenvolvimento, no final da década de 1970, tornou-se um importante agente antifúngico na medicina veterinária (MEDLEAU et al., 1990), sendo amplamente utilizado devido à facilidade de administração, à eficácia e ao custo (HEIT; RIVIERE, 1995).

Schubach et al. (2004) relataram a cura de gatos apresentando esporotricose com a utilização de cetoconazol (5 a 10 mg/kg a cada 24 horas) por via oral. Entretanto, existem relatos de insucesso quando este fármaco foi utilizado no tratamento de gatos com esporotricose (MARQUES et al., 1993; NOBRE et al., 2001).

Pereira et al. (2010) trataram 598 gatos com cetoconazol na dose de 50 a 100 mg a cada 12 ou 24 horas (13,5-27,0 mg/kg/dia). A cura clínica foi observada em 28,5% dos gatos num tempo mediano de tratamento de 28 semanas, e em 42,1% dos casos houve a ocorrência de efeitos adversos gastrointestinais, sendo a hiporexia o mais frequente.

Segundo Bennet (2006), o cetoconazol tem sido substituído pelo itraconazol no tratamento das micoses, exceto quando o baixo custo do primeiro superar as vantagens do itraconazol.

1.8.3 Itraconazol

O itraconazol é um antifúngico triazólico sintético de primeira geração considerado o fármaco de eleição para humanos e gatos com esporotricose (KAUFFMAN et al., 2007, SCHUBACH et al., 2012) devido à sua efetividade (PEREIRA et al., 2010; SCHUBACH et al., 2004) e por estar menos associado aos efeitos adversos quando comparado aos demais agentes antifúngicos (PEREIRA et al., 2010). O itraconazol é de 5 a 100 vezes mais potente que o cetoconazol *in vitro* e *in vivo*, embora o mecanismo de ação seja similar. Ao contrário do cetoconazol, apresenta alta seletividade às enzimas do citocromo P-450 fúngico, resultando em menor ocorrência de efeitos adversos (HEIT; RIVIERE, 1995). As doses utilizadas no tratamento da esporotricose em gatos variam de 5,0 a 27,7 mg/kg a cada 24 horas (SCHUBACH et al., 2012).

O itraconazol está disponível em cápsulas, solução oral e solução intravenosa (BENNET, 2006). Entretanto, atualmente, no Brasil, encontram-se comercialmente disponíveis apenas cápsulas de 10, 25, 50 e 100 mg (uso veterinário) e 100 mg (uso humano) (PEREIRA et al., 2009). Cabe ressaltar que formulações de itraconazol manipuladas devem ser evitadas, pois não são totalmente absorvidas quando comparadas ao fármaco industrializado (MAWBY et al., 2014).

Pereira et al. (2010) trataram 175 gatos com itraconazol na dose de 8,3 a 27,7 mg/kg a cada 24 horas. A cura clínica foi observada em 38,3% dos gatos em tempo mediano de tratamento de 26 semanas, e os efeitos adversos gastrointestinais foram observados em 30,9% dos casos.

1.8.4 Fluconazol

O fluconazol é um triazólico que apresenta melhor penetração tecidual e tolerabilidade quando comparado ao itraconazol. No entanto, não há estudos até o momento que descrevam sua efetividade e segurança na esporotricose felina. Poucos são os relatos sobre a utilização desse medicamento em gatos com esporotricose, e os resultados são inconclusivos (SCHUBACH et al, 2004; CROTHERS et al, 2009).

1.8.6 Anfotericina B

O uso da anfotericina B é recomendado nas formas extracutânea e sistêmica da esporotricose humana e nos casos não responsivos à terapêutica convencional (KAUFFMAN et al., 2007). Esse fármaco administrado por via intravenosa (IV) em gatos com esporotricose não apresentou resultados satisfatórios devido à ocorrência de efeitos adversos e óbitos (NUSBAUM et al., 1983; DUNSTAN et al., 1986a; MACKAY et al., 1986). Entretanto, Gremião et al. (2011) descreveram o uso da anfotericina B intralesional associado ao itraconazol em 26 gatos com lesões esporotricóticas residuais e observaram cura em 72,7% dos casos; o principal efeito adverso foi o abscesso estéril em 15,4% dos casos.

1.8.7 Termoterapia

Alguns autores sugerem a termoterapia local como tratamento alternativo para a esporotricose (WERNER; WERNER, 1994). Honse et al. (2010) relataram a cura clínica de um gato com esporotricose cutânea localizada utilizando a termoterapia local, duas vezes ao dia, durante sete semanas. Segundo os mesmos autores, as limitações desse tratamento no gato envolvem a localização das lesões, determinação do momento adequado para suspensão da terapia e a dificuldade na determinação da temperatura adequada. Além disso, é necessário que o paciente seja cooperativo e que apresente a lesão cutânea única da esporotricose.

1.8.8 Cirurgia

A ressecção cirúrgica é descrita em animais com lesões residuais ou refratárias ao tratamento oral antifúngico (HIRANO et al., 2006; GREMIÃO et al., 2006). Autores relataram o caso de um gato com esporotricose que, após 19 meses de tratamento regular com itraconazol, apresentou uma nova lesão localizada na bolsa escrotal. Devido à persistência da lesão por

cinco meses, foi realizada com sucesso a exérese da lesão através da ressecção total da bolsa escrotal e orquiectomia bilateral (GREMIÃO et al., 2006).

1.8.9 Criocirurgia

A criocirurgia, crioablação ou cirurgia por congelamento é uma modalidade terapêutica na qual o congelamento é utilizado para induzir a morte celular na área tecidual alvo. Foi inicialmente conceituada por Cooper (1963) como a aplicação do frio, com fins terapêuticos, visando à congelação dos tecidos biológicos. Segundo Goldstein e Hess (1977), seria o procedimento em que haveria a destruição seletiva de tecidos quando da alternância dos ciclos de congelamento e de descongelamento. A técnica é muito difundida na medicina humana, principalmente na dermatologia (MARQUES, 1989), mas também é utilizada na estomatologia, oftalmologia e proctologia (PIMENTEL, 1997).

Na medicina veterinária, a crioterapia tem maiores possibilidades de emprego na dermatologia (KRAHWINKEL et al., 1976; NORSWORTHY et al., 1977; WITHROW, 1980; LUCAS; LARSSON, 2002). Vários trabalhos relatam o uso da criocirurgia em: dermatoviroses, lesões granulomatosas, piodermites, hiperplasias e cistos, fístulas, protozooses e neoplasias benignas ou malignas (SHIBATA et al., 2002; LUCAS; LARSSON, 2002; NANDI et al., 2002).

Lucas e Larsson (2006) trataram 50 gatos com carcinoma espinocelular utilizando a aplicação de nitrogênio líquido com auxílio de spray ou cone, com tempo de congelamento variando de 90 a 240 segundos, com margem de segurança perilesional de 5 a 15 mm e descongelamento natural em temperatura ambiente, e obtiveram cura em 72% dos animais tratados. Os autores não evidenciaram complicação ou seqüela em 37 dos animais tratados. Nos outros 13 animais, as complicações observadas foram perda tecidual, esternutação e ceratoconjuntivite seca observados no pós-criocirurgia imediato ou mediato.

Os mecanismos de morte celular através da criocirurgia englobam três fases: fase imediata (ação direta), fase retardada e fase tardia. A fase imediata ocorre durante o ciclo de congelamento ou imediatamente após o descongelamento (GAGE; BAUST, 1998; HOFFMANN; BISCHOF, 2002). A morte celular acontece por mecanismos que ocorrem simultaneamente, tais como a desidratação e concentração de solutos, em que o congelamento da água no meio intersticial gera uma hiperosmolaridade, que leva a uma perda de água

intracelular com consequentes alterações eletrolíticas gerando danos irreversíveis à célula (GAGE; BAUST, 1998; HOFFMANN; BISCHOF, 2002).

A formação de cristais de gelo ocorre quando o congelamento é rápido e impede que a célula perca a água para o meio externo. Com intuito de manter o equilíbrio osmótico, formam-se cristais intracelulares pequenos e inócuos à célula (HOFFMANN; BISCHOF, 2002). Se ocorrer, na sequência, o descongelamento lento dos pequenos cristais, inicialmente inócuos, eles irão se converter em grandes cristais, muito mais deletérios para a célula. Este processo é denominado recristalização (WITHROW, 1980; GOURLEY, 1985; HOFFMANN; BISCHOF, 2002) e consiste na desnaturação de proteínas em que as rápidas alterações eletrolíticas e a ação direta do congelamento sobre os constituintes moleculares das células levam a danos proteicos irreversíveis (MARQUES, 1989, HOFFMANN; BISCHOF, 2002) e ao choque térmico, que promove a ruptura de organelas e membranas celulares decorrente da formação dos cristais intracelulares (ZACARIAN, 1985).

A fase retardada é caracterizada pela estase vascular e ocorre algumas horas após o final do ciclo de congelamento/descongelamento. Pequenos vasos sanguíneos, especialmente os capilares, sofrem danos irreversíveis após o congelamento, induzindo à anóxia celular com consequente morte tecidual. Apenas a microcirculação é comprometida; as grandes artérias e veias mantêm suas funções (MARQUES, 1989, ZACARIAN, 1995, HOFFMANN; BISCHOF, 2002).

A fase tardia teoricamente é denominada “fase imunológica” devido à formação de anticorpos antineoplásicos resultantes da crioterapia, que alteraria a constituição antigênica celular. Esse fato vem despertando um grande interesse no tratamento de neoplasias malignas (SEIM III, 1980; GAGE; BAUST, 1998; RUBINSKY, 2000; KUFLIK, 2004).

Nem todas as células de uma determinada área submetida à crioterapia são destruídas em um único ciclo de congelamento-descongelamento. Para que se tenha mais êxito nesses procedimentos, deve-se levar em consideração o criógeno utilizado, equipamento e técnicas de aplicação, duração e temperatura do congelamento, relação entre os tempos de congelamento e descongelamento, número de ciclos e fatores intrínsecos ao próprio paciente (LUCAS, 2004).

Vários criógenos existentes são capazes de extrair o calor de tecidos vivos, e o nitrogênio líquido é o mais utilizado na crioterapia. Atinge a temperatura de 195,8°C negativos, é incolor, inodoro, atóxico, inerte, não inflamável e extremamente potente, pois apresenta a maior capacidade de penetração nos tecidos, além de promover um congelamento extremamente rápido quando comparado aos outros criógenos. Seu armazenamento deve ser em botijões apropriados, com distintas capacidades (10-50 litros). Em relação ao custo, é o mais

barato dos criógenos (SILVERMAN et al., 2000; KORPAN; ZHARKOV, 2001; KORPAN, 2001; ROBINSON et al., 2001; DAWBER 2001; LUCAS; LARSSON, 2002; DAWBER, 2002).

A manipulação do nitrogênio líquido requer alguns cuidados. É importante não manipular metais congelados pelo nitrogênio, não acondicionar em recipientes não apropriados, como, por exemplo material plástico, e, principalmente, não ter contato direto com o líquido (DAWBER 2001, LUCAS; LARSSON, 2002; DAWBER, 2002; SILVERMAN et al., 2000; KORPAN; ZHARKOV, 2001; KORPAN, 2001; ROBINSON et al., 2001). A escolha do tipo de equipamento e da forma de aplicação está relacionada, principalmente, ao diagnóstico do quadro mórbido, do tipo e fase evolutiva da lesão, do estado de higidez e, até mesmo, em função da estimativa de custo e da aparelhagem disponível (DAWBER, 2001, LUCAS, 2004).

Para a aplicação do nitrogênio líquido, utilizam-se swabs, spray, sondas e o derramamento direto do nitrogênio. Cada tipo de equipamento é o mais apropriado para uma determinada lesão (SAXE; MC DONALD, 1976; DAWBER, 2001; ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012). O parâmetro a ser adotado para a finalização do procedimento é a observação da formação de halo branco de congelamento ao redor da lesão. Lesões de tamanho reduzido necessitam de um menor tempo de congelamento comparativamente às lesões maiores. Assim, podem ser necessárias repetições do procedimento para a obtenção do resultado satisfatório (DAWBER, 2001; ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012).

O spray é o procedimento mais difundido e baseia-se no princípio de volatilização do nitrogênio líquido, que, quando confinado em recipiente fechado, tende a buscar a abertura existente (GREINER et al., 1975; WITHROW et al., 1975; GOLDESTEIN; HESS, 1977; WITHROW, 1980; HOYT JR; SEIM III, 1981; SEIM III; HOYT, 1982). Existem disponíveis alguns tipos distintos de aparelhos, que sempre se baseiam, porém, neste princípio, ou seja, o jato de nitrogênio sai por orifícios, de diâmetros pequenos e variados, das diferentes ponteiros (KORPAN, 2001).

Na dependência do diâmetro das ponteiros, padronizado por cada fabricante, o nitrogênio será expelido numa mistura de líquido-vapor que pode variar na proporção de 15% a 85% de líquido e de 15% a 85% de vapor, de modo que a maior quantidade de líquido retrata uma maior potência do equipamento (BRYNE, 1980). A velocidade de saída do nitrogênio é controlada por um gatilho, constituinte do aparelho (SEIM III; HOYT, 1982; MARQUES, 1989).

É possível, com este método, tratar lesões planas ou em relevo. Não há necessidade de aplicação em um único ponto, embora a aplicação no ponto médio da lesão seja a mais utilizada

(GOLDESTEIN; HESS, 1977; DAWBER, 2001). A escolha da ponteira, com seu respectivo orifício, varia de acordo com o tamanho da lesão: quanto maior a lesão, maior deve ser o orifício. Para a manutenção do halo de congelamento desejado, é necessário que o jato seja intermitente, até que se atinja o tempo previsto (MARQUES, 1989; KORPAN 2001; DAWBER, 2001).

Com o spray, há a possibilidade de tratamento de lesões lineares, nas quais se faz um movimento de vaivém (também conhecido como “método do pincel”), ou de lesões geográficas onde se aplica de modo circular ou em movimentos em espiral (MAIA; RIBEIRO, 1997; ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012). A desvantagem do spray (PIMENTEL, 1997; DAWBER, 2001) é o risco de insuflação do subcutâneo, quando utilizado em úlceras ou fístulas. O emprego do spray inclui-se no chamado sistema aberto, quando o jato é direcionado para a lesão. Pode ser chamado de confinado quando se utiliza um cone de neoprene ou de otoscópio para direcionar o jato ou para se controlar o diâmetro do congelamento (MAIA; RIBEIRO, 1997; LUCAS; LARSSON, 2002).

À temperatura de no mínimo 20°C negativos, por pelo menos um minuto, todos os tecidos vivos sofrem crionecrose. Porém, quanto mais longo for o período do congelamento, maior será a extensão de área necrosada. Deve-se levar em consideração que se desejam temperaturas mais baixas, em regiões onde não existam estruturas importantes como vasos sanguíneos calibrosos próximos à lesão que se pretende congelar (LANE, 1974a; GREINER et al., 1975; GOLDSTEIN; HESS, 1977; PODKONJAK, 1982; WITHROW, 1989).

É difícil precisar uma única temperatura como ideal, pois o congelamento ocorre em distintas temperaturas em função do tecido considerado. Assim, os osteócitos são destruídos a uma temperatura de 0°C, células do epitélio tegumentar e das glândulas de mucosas são destruídas a 10°C negativos, os melanócitos numa faixa térmica de 3°C a 14°C negativos. Já a temperatura requerida para a necrose de células de carcinomas espinocelulares gira em torno de 30°C negativos (GRAHAN, 1983) e 50°C negativos, ideal para tratamento de neoplasias malignas (ZACARIAN, 1985; MAIA; RIBEIRO, 1997; PIMENTEL, 1997).

Quanto mais rápido for o congelamento, mais intenso será o grau de crionecrose, e quanto mais lento for o descongelamento, por sua vez, maior será a morte celular. Já um congelamento lento seguido de descongelamento rápido irá reduzir a crionecrose (LANE, 1974a; GREINER et al., 1975; GOLDSTEIN; HESS, 1977; SEIM III, 1980; WITHROW, 1980; PODKONJAK, 1982).

A anestesia deve ser utilizada em qualquer procedimento crioterápico com o objetivo de diminuir o desconforto e a dor do animal. A tranquilização seguida de anestesia local é

realizada em pequenos procedimentos. A anestesia local promove a balonização da lesão, afastando-a de vasos que possam estar abaixo dela (LUCAS; LARSSON, 2002). Dependendo da localização da lesão, a anestesia geral torna-se necessária, como, por exemplo, no tratamento de tumores em cavidade oral ou em lesões interdigitais. Após a anestesia, o local a ser congelado deve ser tricotomizado, melhorando, assim, a sua visualização. Em casos de lesões extensas, recomenda-se prévia exérese da maior quantidade de tecido lesado possível ou a plena retirada da lesão pela sua base (“*shaving*”), diminuindo, dessa maneira, a quantidade de tecido a ser congelado, de modo a gerar uma superfície mais regular e conseqüente diminuição do tempo requerido para o congelamento (LUCAS; LARSSON, 2002; SHIBATA et al., 2002; KUFLIK, 2004; ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012).

Como regra prática, recomenda-se, para cada lesão e doença dermatológica, um tempo específico de congelamento. (MAIA; RIBEIRO, 1997; DAWBER, 2001; DAWBER, 2002; KUFLIK, 2004; ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012). Sugere-se, ainda, que, em uma lesão que deva ser congelada por 60 segundos, o tempo pode ser dividido da seguinte maneira: de 10-15 segundos para se atingir o halo desejado e, nos 45 a 50 segundos restantes, manter o halo de congelamento. Da mesma maneira, para se determinar o tempo ideal de descongelamento total, sugere-se que este deva ser igual ou maior a duas vezes o tempo de congelamento total (MAIA; RIBEIRO, 1997; DAWBER 2001; DAWBER, 2002; KUFLIK, 2004).

O tratamento crioterápico deve levar em consideração as medidas de destruição a serem alcançadas. Tais medidas podem ser maiores em diferentes eixos; sendo assim, a caracterização morfológica das lesões cutâneas deve ser priorizada (LUCAS, 2004). Nas formações sólidas (pápulas, nódulos e tumores), o congelamento deve incluir o maior eixo da lesão e a preocupação principal deve ser com a profundidade.

Nas vegetações e verrucosidades, o congelamento deve incluir principalmente a região exofítica da lesão, pois trata-se de lesões de pouca profundidade. Nas coleções líquidas (cistos), o congelamento deve incluir todo o cisto, levando em consideração a profundidade. Nas exulcerações, o principal eixo considerado é o diâmetro da lesão, pois geralmente são lesões pouco profundas. Nas úlceras e nas fístulas, todos os eixos devem ser considerados (LUCAS, 2004).

Outro fator a ser considerado é a localização das lesões em relação à proximidade de estruturas nobres que não devem ser lesadas. A precisa informação de quanto se tenciona destruir e do quanto não se deve lesar leva à opção pela técnica mais adequada. Lucas (2004), baseando-se nos resultados obtidos em seu trabalho, pôde criar modelos de destruição tecidual em diferentes técnicas avaliadas.

O número de ciclos, bem como o tempo de cada ciclo, varia de acordo com o tipo e a extensão da lesão (ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012). Em casos nos quais há a possibilidade de realização de crioterapia sem o risco de perda de estruturas vitais ou, ainda, em neoplasias malignas, devem-se realizar dois ciclos ou mais de congelamento-descongelamento, sendo que, em lesões benignas, realizam-se tão somente dois ciclos. (MARQUES, 1989; DAWBER, 2001; LUCAS; LARSSON, 2002; DAWBER, 2002; KUFLIK, 2004, ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012). Ademais, recomenda-se que se evite o uso de um único ciclo, pois este procedimento diminui em muito a taxa de morte celular (LANE, 1974b; GREINER et al., 1975; SAXE; MCDONALD, 1976; GOLDESTEIN; HESS, 1976; GOLDSTEIN; HESS, 1977; WITHROW, 1980; SEIM III, 1980, MARQUES, 1989).

Embora até o momento não haja estudos que comprovem o verdadeiro potencial contaminante de partículas contidas no gás que volatiliza durante o procedimento criocirúrgico, é importante o uso de equipamentos de proteção individual, como máscaras, luvas e óculos de proteção, considerando o princípio da viabilidade das partículas virais e fúngicas (MORAES et al., 2008).

A criocirurgia também é considerada um recurso terapêutico em algumas dermatoses infecciosas em humanos; Ferreira et al. (2011) descreveram a criocirurgia como terapia adjuvante em pacientes humanos com esporotricose cutânea fixa e linfática no Rio de Janeiro. Os autores observaram a diminuição no tempo de tratamento, reduzindo custos e efeitos adversos em nove pacientes com a forma cutânea fixa e linfática. Esses pacientes foram submetidos a sessões mensais de criocirurgia com nitrogênio líquido. Cinco pacientes faziam uso somente do itraconazol por um período em média de 28,8 semanas. Após a introdução da terapia adjuvante com a criocirurgia, receberam alta em 12 semanas. Um paciente fez uso de iodeto de potássio, foi submetido a duas sessões de criocirurgia e, após 12 semanas, recebeu alta. Três pacientes que faziam uso de itraconazol associado à terbinafina quando a criocirurgia foi associada receberam alta em 16 semanas.

Pimentel et al. (1989), Bonifaz et al. (1997) e Castro et al. (2003) descreveram a utilização da criocirurgia isoladamente ou em combinação com itraconazol oral para a cura da cromoblastomicose humana. Os mesmos autores citam que as baixas temperaturas não são capazes de eliminar os elementos fúngicos e acreditam que a necrose tecidual promovida pelo congelamento induz à morte do fungo.

Recentemente, autores têm sugerido que a criocirurgia possa ser uma opção viável como terapia adjuvante na esporotricose felina (MALIK et al., 2009; GREMIÃO et al., 2011). Souza et al. (2016) descreveram o uso da associação criocirurgia e itraconazol oral em 13 gatos com

esporotricose e observaram cura clínica em 11 deles. As principais lesões submetidas à criocirurgia nesse estudo foram úlceras e nódulos localizados em diferentes áreas do corpo, incluindo plano nasal. O tempo de tratamento variou de 14 a 64 semanas.

2 JUSTIFICATIVA

Desde 1998, vem ocorrendo uma epizootia de esporotricose felina na região metropolitana do Rio de Janeiro. Até 2012, foram diagnosticados no INI/Fiocruz 4.124 gatos com esta micose (GREMIÃO et al., 2015). Estudos clínicos realizados pelo grupo de pesquisa do Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz demonstraram que o tratamento da esporotricose felina representa um desafio aos médicos veterinários em alguns casos, pois a frequência de cura clínica com o fármaco de eleição é de aproximadamente 40% (PEREIRA et al., 2010), a maioria dos agentes antifúngicos sistêmicos utilizados apresenta efeitos adversos, além do número limitado de agentes antifúngicos orais disponíveis, da dificuldade de administração, do tempo prolongado de tratamento e do alto custo.

A criocirurgia é utilizada em diversas dermatopatias, entretanto, estudos relacionados à sua utilização na esporotricose são escassos. Autores sugeriram a realização de estudos com o intuito de avaliar o uso da criocirurgia em gatos com esporotricose (MALIK et al., 2009; GREMIÃO et al., 2011). Até o momento, existe apenas uma publicação sobre a utilização da criocirurgia associada ao itraconazol no tratamento da esporotricose em gatos (SOUZA et al., 2016). Os resultados promissores dessa modalidade terapêutica obtidos em estudos na esporotricose humana e felina (FERREIRA et al., 2011; SOUZA et al., 2016) apontam para a necessidade de se realizarem novos estudos com um número maior de gatos, incluindo os virgens de tratamento.

A carência de estudos sobre a criocirurgia no tratamento da esporotricose reflete a necessidade de estudos a respeito desta opção terapêutica. Portanto, o estudo da aplicação da criocirurgia em gatos com esporotricose, provenientes da epizootia em curso no Rio de Janeiro, constitui uma oportunidade para ampliar o conhecimento sobre os aspectos terapêuticos dessa micose.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever o uso da criocirurgia associada ao itraconazol oral em lesões cutâneas de gatos com esporotricose.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Descrever o perfil clínico e epidemiológico dos gatos com esporotricose submetidos à criocirurgia associada ao itraconazol oral;

Descrever a efetividade da associação da criocirurgia e itraconazol oral em lesões cutâneas causadas por *Sporothrix* spp.;

Descrever os efeitos adversos relacionados à criocirurgia associada ao itraconazol oral na esporotricose felina;

Descrever a frequência dos desfechos do esquema terapêutico proposto.

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo de coorte observacional de gatos com esporotricose.

4.2 DEFINIÇÃO DOS TERMOS UTILIZADOS NESTE ESTUDO

Gato com esporotricose virgem de tratamento: gato que não recebeu tratamento antifúngico para esporotricose por quaisquer vias de administração previamente à inclusão no estudo;

Gato com esporotricose refratário ao tratamento com itraconazol oral: gato que, ao final de oito semanas de tratamento com itraconazol por via oral (100mg/gato/dia), apresentou estagnação ou piora do quadro clínico;

Estagnação do quadro clínico: ausência de resposta clínica após um mês de tratamento com itraconazol;

Piora do quadro clínico: surgimento de novas lesões cutâneas e/ou mucosas e agravamento dos sinais clínicos extracutâneos do gato após um mês de tratamento com itraconazol;

Ausência de cicatrização da lesão cutânea após a criocirurgia: lesão cutânea não epitelizada, com presença de crostas, descamação e infiltração um mês após a sessão de criocirurgia;

Cicatrização parcial da lesão cutânea após criocirurgia: lesão cutânea parcialmente epitelizada, podendo ser observada a presença de crostas, descamação, infiltração um mês após a realização da sessão de criocirurgia;

Cicatrização total da lesão cutânea após criocirurgia: epitelização com ausência de crostas, descamação, infiltração um mês após a realização da sessão de criocirurgia;

Cura clínica: cicatrização completa das lesões submetidas ou não à criocirurgia e remissão de todos os sinais clínicos inicialmente apresentados pelo gato;

Falência terapêutica: estagnação ou piora do quadro clínico do gato em duas revisões consecutivas (dois meses).

Abandono do tratamento: não comparecimento na data indicada, após o procedimento criocirúrgico.

4.3 CASUÍSTICA

4.3.1 População de estudo

A população do estudo foi constituída por gatos com diagnóstico de esporotricose assistidos no Lapclin-Dermzoo/INI/Fiocruz no período de março de 2012 a outubro de 2015.

4.4 AMOSTRA

Foi utilizada uma amostra de conveniência constituída por gatos que preencheram os critérios de elegibilidade e cujos responsáveis autorizaram a participação do gato no estudo por meio da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (anexo A).

4.5 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Foram incluídos gatos virgens de tratamento ou em uso de itraconazol oral.

4.5.1 Critérios de inclusão

Gatos apresentando lesões cutâneas nos quais o diagnóstico de esporotricose foi obtido pelo isolamento do *Sporothrix* spp. em meio de cultura ou pela observação de estruturas leveduriformes compatíveis com o agente etiológico nos exames citopatológico e/ou histopatológico;

Gatos apresentando pelo menos uma lesão cutânea ulcerada, nodular ou gomosa; de até 5 cm de diâmetro, localizadas em orelhas, face, membros, dorso, abdômen e/ou tórax.

4.5.2 Critérios de exclusão

Gatos com idade inferior a seis meses ou superior a 10 anos;

Uso de terapia concomitante não permitida (agentes antineoplásicos e corticoesteroides);

Gestantes (segundo informação do responsável e/ou confirmação por meio de exame clínico) e lactentes.

4.6 PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Lapclin-Dermzoo em colaboração com o Serviço de Farmácia, o Laboratório de Micologia (Lab-Micol) e Serviço de Anatomia Patológica (SAP), todos pertencentes ao INI/Fiocruz.

4.6.1 Procedimentos de inclusão e acompanhamento

Na consulta inicial (inclusão), realizaram-se a avaliação clínica do gato, a sedação, a coleta de amostras para o diagnóstico micológico (exsudato de lesão cutânea e/ou fragmento de lesão cutânea), a criocirurgia e a documentação fotográfica digital. Já nas consultas de seguimento mensais, foram realizadas a avaliação clínica e a documentação fotográfica.

4.6.1 Consulta de inclusão

4.6.1.1 Exame Físico

Esta etapa incluiu o exame físico, que consistiu em pesagem do gato, avaliação do estado geral, inspeção de mucosas e pele, observando-se o aspecto morfológico da lesão cutânea e sua localização. Foi realizada a classificação das lesões dermatológicas quanto à morfologia em: pápulas, úlceras, nódulos e goma.

A seleção da(s) lesão(ões) para criocirurgia foi baseada na localização e no tamanho dela(s), a(s) qual(is) foi(ram) mensurada(s) com auxílio de um paquímetro (diâmetro em cm). Posteriormente, foi realizada a coleta de amostras nas lesões previamente selecionadas para o diagnóstico da esporotricose.

4.6.1.2 Sedação

Os gatos foram submetidos à sedação com cloridrato de quetamina 10% (10 a 15 mg/kg) associado ao maleato de acepromazina 1% (0,1 mg/kg) via intramuscular. Posteriormente, foram submetidos à anestesia local infiltrativa com cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstrictor (na dose máxima de 7 mg/kg), para coleta de fragmentos de lesão cutânea e criocirurgia.

4.6.1.3 Diagnóstico laboratorial

A coleta de amostra para realização do exame citopatológico consistiu na realização de uma *imprint* da lesão cutânea previamente selecionada para a criocirurgia realizado com uma

lâmina de vidro limpa e seca, a qual foi corada pelo método panótico rápido e, posteriormente, observada no Lapclin-Dermzoo.

Para a realização do cultivo micológico, foi procedida a coleta do exsudato da lesão cutânea com auxílio de um *swab* estéril, semeado em ágar Sabouraud-dextrose acrescido de cloranfenicol e ágar Mycosel, sendo posteriormente enviado para o Lab-Micol. A coleta de fragmentos de lesão cutânea foi realizada por meio de biópsia com *punch* estéril de 3 mm para realização do exame histopatológico e cultura micológica. O material coletado para o exame histopatológico foi acondicionado em formalina 10% e enviado para o SAP, enquanto que o fragmento destinado à cultura micológica foi armazenado em solução salina acrescida de antibióticos e enviado ao LabMicol.

No SAP, as amostras foram processadas rotineiramente para a inclusão em parafina. Cortes de 5 mm foram submetidos à técnica de impregnação pela prata de Grocott (CARSON; HLEDICK, 2009). As lâminas obtidas foram examinadas no Lapclin-Dermzoo.

4.6.1.4 Boas práticas relacionadas à biossegurança

A equipe de médicos veterinários que participou do atendimento dos gatos incluídos no estudo utilizou equipamentos de proteção individual descartáveis, como, luvas de látex, aventais descartáveis de manga longa com elástico nos punhos, touca, óculos de proteção e máscaras faciais, obedecendo às boas práticas relacionadas às técnicas, normas e procedimentos de trabalho (SILVA et al., 2012).

4.6.1.5 Protocolo terapêutico com itraconazol oral

Nos gatos virgens de tratamento, foi instituído o itraconazol oral (100 mg/gato/a cada 24 horas). Nos gatos que estavam utilizando previamente este fármaco, o tratamento foi mantido na mesma dose de 100 mg/gato a cada 24 horas, um mês após a cura clínica.

4.6.1.6 Procedimento criocirúrgico

Foi realizada uma sessão de criocirurgia em no máximo cinco lesões cutâneas, com até 5 cm de diâmetro, localizadas em orelhas, face, membros, dorso, abdômen e/ou tórax. Nos gatos virgens de tratamento e nos não refratários ao itraconazol, o procedimento criocirúrgico foi realizado após o diagnóstico laboratorial por um dos métodos de diagnóstico utilizados. Nos gatos refratários ao itraconazol, a criocirurgia foi realizada quando se observou a estagnação ou piora das lesões cutâneas após oito semanas de tratamento com o triazólico.

4.6.1.6.1 Aparelho de criocirurgia e criógeno

O aparelho utilizado foi o Cry-Ac® (Brymill Co, Ellington CT, USA) com nitrogênio líquido como criógeno (Figura 1A).

Figura 1 – Aparelho de criocirurgia e criógeno



Legenda: A) Aparelho de criocirurgia Cry-Ac® (Brymill Co) utilizado para realização da criocirurgia em 28 gatos com esporotricose. B) Procedimento criocirúrgico-congelamento, formação do halo de congelamento. C) Procedimento criocirúrgico-descongelamento, eritema ao redor da lesão congelada.

Fonte: a própria autora.

4.6.1.6.2 Aplicação do criógeno (*nitrogênio líquido*)

Foram feitas a tricotomia no entorno da lesão e a anestesia local infiltrativa para a realização da criocirurgia. A técnica criocirúrgica utilizada foi a de spray aberto, com auxílio de ponteira C, utilizada para lesões com até 5 cm de diâmetro.

A aplicação do criógeno foi realizada continuamente em um ponto fixo da lesão, em no máximo 15 segundos, até a visualização do halo de congelamento ao redor da lesão e, logo em seguida, a aplicação intermitente por mais 45 segundos, completando um ciclo de 60 segundos. Foram realizados dois ciclos de congelamento-descongelamento, considerando o tempo de descongelamento o dobro do tempo de congelamento (120 segundos) (Figura 1).

Após o procedimento criocirúrgico, foi instituída a terapia anti-inflamatória não esteroideal injetável (meloxicam 0,2%, na dose 0,2 mg/kg, dose única, via subcutânea) e antibacteriana oral (amoxicilina com ácido clavulânico 20 mg/kg a cada 12 horas, por 10 dias). Foi recomendado o uso do colar elizabetano logo após o procedimento, durante 20 dias consecutivos.

As ponteiros utilizadas foram limpas com água corrente e sabão, e a desinfecção com hipoclorito de sódio a 1% foi realizada após cada procedimento criocirúrgico.

4.7 SEGUIMENTO TERAPÊUTICO

A terapia antifúngica oral (itraconazol 100mg/gato/a cada 24h) foi mantida até o desfecho do caso. Durante o seguimento terapêutico mensal, os gatos foram submetidos ao exame físico e à documentação fotográfica. Os dados obtidos durante as consultas de seguimento foram anotados nos prontuários médicos.

Trinta dias após a criocirurgia, as lesões cutâneas submetidas ao procedimento foram avaliadas clinicamente quanto à cicatrização (total, parcial e ausência), além da ocorrência de efeitos adversos relacionados à criocirurgia. Os gatos que apresentaram lesões cutâneas além daquelas submetidas à criocirurgia e outros sinais clínicos da doença foram acompanhados mensalmente até o desfecho do tratamento (cura clínica, falência terapêutica e óbito).

4.7.1 Plano de Análise dos dados

Foram descritas as frequências simples das variáveis categóricas (sexo; raça; procedência; tratamento prévio com itraconazol oral; refratariedade ao itraconazol oral; tipo de lesão cutânea; localização da lesão cutânea submetida à criocirurgia; efeitos adversos clínicos relacionados à criocirurgia; efeitos adversos clínicos relacionados ao itraconazol oral; avaliação da cicatrização após a criocirurgia; desfecho) e as medidas de tendência central e dispersão das variáveis quantitativas (idade; peso; número de lesões submetidas à criocirurgia; tamanho das lesões cutâneas submetidas à criocirurgia; tempo de evolução da doença em semanas antes da criocirurgia; tempo de tratamento com itraconazol antes da criocirurgia; tempo de tratamento com itraconazol em semanas após a criocirurgia até a cicatrização das lesões cutâneas). Todos os dados foram armazenados e posteriormente analisados no *software Statistical Package for the Social Sciences*, versão 16.0.

4.7.2 Aspectos Éticos

Os procedimentos realizados nos gatos incluídos no projeto foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Fiocruz sob licença LW-41/12.

5 RESULTADOS

Foram incluídos no estudo 28 gatos com esporotricose apresentando lesões cutâneas. O diagnóstico da esporotricose felina foi realizado por meio de crescimento de *Sporothrix* spp. em meio de cultivo em 25 casos, exame histopatológico da lesão cutânea (impregnação pela prata de Grocott) em dois casos, e exame citopatológico do exsudato proveniente da lesão cutânea em um caso (método panótico rápido).

A maioria dos animais era macho (n=22; 78,6%) e todos sem raça definida (n=28; 100%). A idade mediana dos gatos foi de 24 meses (oito a 96 meses), e a mediana do peso foi de 4,2 kg (2,7 a 7,3 kg).

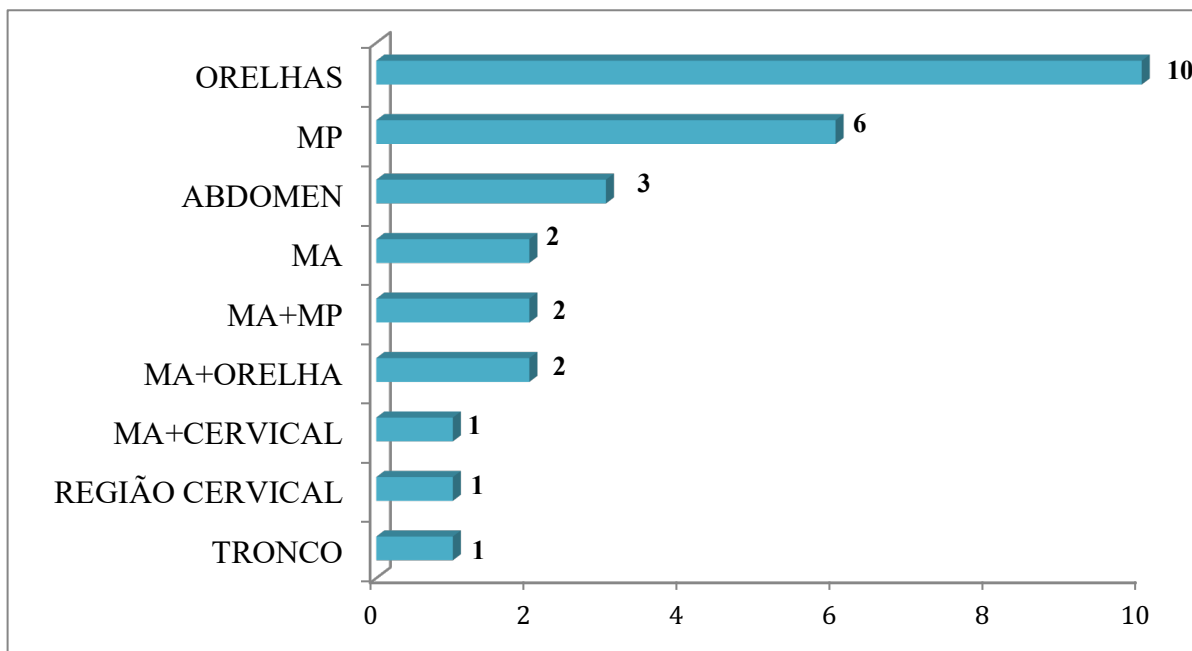
Dos 28 gatos incluídos, 21 (75%) haviam recebido tratamento prévio com itraconazol oral (100 mg/kg/gato a cada 24 horas), dos quais sete (33%) foram considerados refratários ao uso desse azólico. Sete gatos eram virgens de tratamento (25%).

O tempo mediano correspondente à evolução da esporotricose antes da primeira sessão de criocirurgia foi de 28 semanas (de 2 a 120 semanas). No grupo de gatos que haviam recebido tratamento prévio com itraconazol, o tempo de evolução foi de 12 semanas (de 3 a 129 semanas), e nos gatos com esporotricose refratária foi de 20 semanas (de 8 a 120 semanas). Já nos gatos virgens de tratamento, o tempo mediano de evolução foi de 4 semanas (de 2 a 48 semanas). A úlcera foi o tipo de lesão cutânea predominantemente submetida à criocirurgia (n=22; 78,6%), seguida por goma (n=3; 10,7%) e pápula (n=1; 3,6%). Também foi observada a ocorrência de úlcera associada à pápula (n=1; 3,6%) ou goma (n=1; 3,6%). A mediana do diâmetro de todas as lesões cutâneas submetidas à criocirurgia (n=48) foi de 1,0 cm (de 0,3cm a 4,0cm).

As frequências de localização das lesões cutâneas submetidas à criocirurgia encontram-se na Figura 2.

Em relação ao número de lesões cutâneas submetidas à criocirurgia em cada gato, na maioria dos casos, somente uma lesão foi congelada (n=15; 53,6%), seguido por duas lesões (n=7; 25%), três lesões (n=5; 17,9%) e quatro lesões (n=1; 3,6%).

Figura 2 – Frequências das localizações topográficas das lesões cutâneas submetidas à criocirurgia, nos 28 gatos com esporotricose provenientes da região metropolitana do Rio de Janeiro, atendidos no período de março de 2012 a outubro de 2015



Legenda: MA - membro anterior; MP -membro posterior

Fonte: a própria autora.

Nos 28 gatos submetidos à criocirurgia (Figuras 3A, 3C e 3E), a cicatrização total das lesões (Figura 3B) foi observada em 16 casos (57,1%). Em nove casos (32,1%), houve a cicatrização parcial (Figura 3D), enquanto que em três casos (10,7%) não se observaram sinais de cicatrização nas lesões cutâneas (Figura 3F).

Figura 3 – Gatos submetidos à criocirurgia

Legenda: A, C e E) Gatos submetidos à criocirurgia. B) Cicatrização total das lesões. D) Cicatrização parcial das lesões. F) Ausência de cicatrização das lesões.

Fonte: a própria autora.

Na figura 3A, há um gato com lesão ulcerada em pescoço antes da criocirurgia; em 3B, evidencia-se a cicatrização total da lesão, 30 dias após a criocirurgia. Já na figura 3C, há um gato com lesão ulcerada em orelha direita antes da criocirurgia; em 3D, nota-se cicatrização parcial, 30 dias após a criocirurgia. Na figura 3E, tem-se um gato com lesão gomótica em orelha direita, e em 3F, ausência de cicatrização, 30 dias após a criocirurgia.

A avaliação da cicatrização das lesões submetidas à criocirurgia no grupo dos gatos virgens de tratamento, não refratários ao tratamento (com exceção dos virgens de tratamento) e os refratários encontram-se, respectivamente, nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1 – Avaliação da cicatrização das lesões um mês após a criocirurgia, no grupo dos gatos com esporotricose virgens de tratamento

	(n)	Gatos virgens	
			%
Cicatrização total	4		57,1
Cicatrização parcial	3		42,9
Ausência de cicatrização	0		0
Total	7		100,0

Fonte: a própria autora.

Tabela 2 – Avaliação da cicatrização das lesões um mês após a criocirurgia, em gatos com esporotricose não refratários ao tratamento, com exceção dos virgens de tratamento

	Gatos não refratários	
	(n)	%
Cicatrização total	10	71,4
Cicatrização parcial	4	28,6
Ausência de cicatrização	0	0,0
Total	14	100,0

Fonte: a própria autora.

Tabela 3 – Avaliação da cicatrização um mês após a criocirurgia, no grupo dos gatos com esporotricose refratários ao tratamento

	Gatos refratários	
	(n)	%
Cicatrização total	2	28,6
Cicatrização parcial	2	28,6
Ausência de cicatrização	3	42,9
Total	7	100,0

Fonte: a própria autora.

Em 15 gatos (53,6%), não se observou a ocorrência de efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol. Entretanto, tais efeitos foram observados em 13 gatos (46,4%), principalmente o emagrecimento relacionado à hiporexia (n=4; 30,7%).

Dos 13 gatos (46,4%) que apresentaram efeitos adversos relacionados ao itraconazol, 10 (35,7%) receberam tratamento prévio com esse fármaco e três (10,7%) eram virgens de tratamento (Tabela 5). Dos que receberam tratamento prévio com itraconazol, três (10,7%) eram refratários (Tabela 6).

Em 20 casos (71,4%), não foi observada a ocorrência de efeitos adversos relacionados ao procedimento crIOCirúrgico. Entretanto, tais efeitos foram observados em oito gatos (28,6%), principalmente leucotriquia (Figura 5A) (n=3; 10,7%) e perda tecidual considerável (n=3; 10,7%) (Figura 5B).

Tabela 4 – Frequência dos efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol quanto à realização ou não de tratamento prévio, nos 28 gatos com esporotricose

	Efeitos Adversos – n (%)		
	Sim	Não	Total
Tratamento prévio	10 (35,7)	11 (39,3)	21 (75)
Virgens de tratamento	3 (10,7)	4 (14,3)	7 (25)
Total	13 (46,4)	15 (53,6)	28 (100)

Fonte: a própria autora.

Tabela 5 – Frequência dos efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol quanto à refratariedade, nos 28 gatos com esporotricose

	Efeitos Adversos – n (%)		
	Sim	Não	Total
Refratário	3 (10,7)	4 (14,3)	7 (25)
Não refratário	10 (35,7)	11 (39,3)	21 (75)
Total	13 (46,4)	15 (53,6)	28 (100)

Fonte: a própria autora.

Tabela 6 – Frequência dos efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol no grupo de sete gatos com esporotricose, virgens de tratamento

	Efeitos Adversos ITZ virgens	
	(n)	%
Emagrecimento	2	28,6
Hiporexia+Emagrecimento	1	57,1
Não	4	14,3
Total	7	100,0

Fonte: a própria autora.

Tabela 7 – Frequência dos efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol no grupo de 21 gatos com esporotricose, com tratamento prévio

	Efeitos Adversos ITZ tratamento prévio	
	(n)	%
Hiporexia	2	9,5
Hiporexia+Emagrecimento	3	14,3
Hiporexia e vômito	1	4,8
Anorexia	2	9,5
Emagrecimento	1	4,8
Vômito	1	4,8
Não	11	52,4
Total	21	100,0

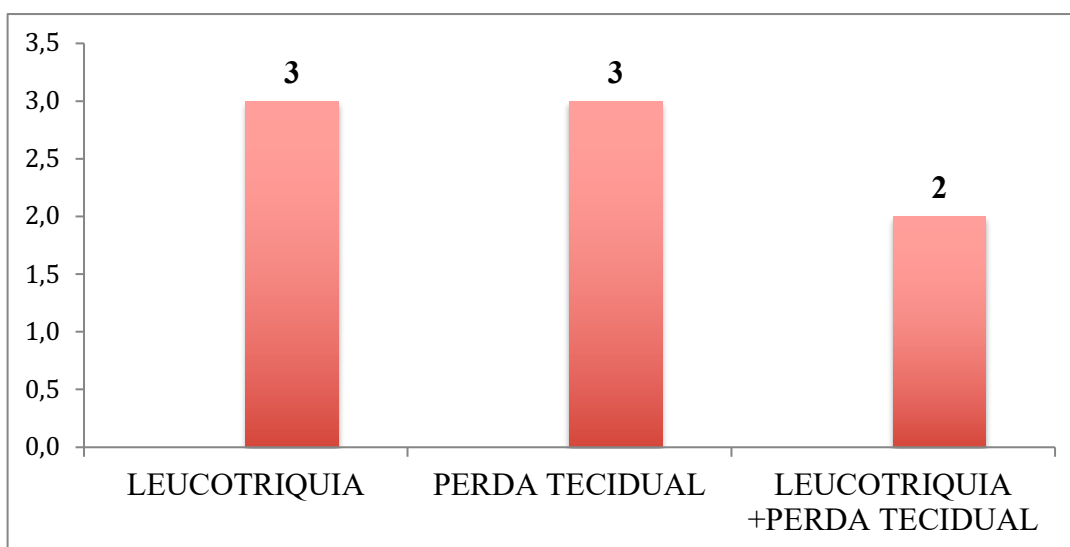
Fonte: a própria autora.

Tabela 8 – Frequência dos efeitos adversos clínicos relacionados à administração do itraconazol no grupo de gatos com esporotricose, com tratamento prévio e não refratário

	Efeitos Adversos ITZ tratamento prévio e não refratário	
	(n)	%
Hiporexia	1	7,1
Hiporexia+Emagrecimento	3	21,4
Hiporexia e vômito	1	7,1
Anorexia	2	14,3
Não	7	50,0
Total	14	100,0

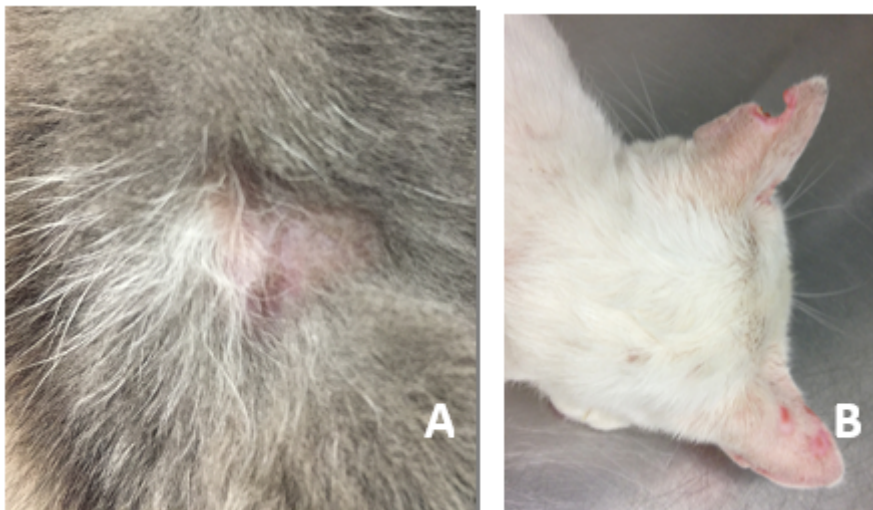
Fonte: a própria autora.

Figura 4 – Distribuição dos efeitos adversos relacionados à criocirurgia, nos 28 gatos com esporotricose



Fonte: a própria autora.

Figura 5 – Sequelas associadas à criocirurgia em gatos com esporotricose



Legenda: A- leucotriquia. B- perda tecidual.

Fonte: a própria autora.

Dos 28 gatos incluídos, 15 (53,5%) obtiveram a cura clínica. Em relação ao desfecho do tratamento antifúngico, dos 16 gatos que apresentaram cicatrização das lesões um mês após o procedimento criocirúrgico, nove obtiveram a cura clínica e em sete houve perda do seguimento terapêutico. Dos nove gatos que apresentaram cicatrização parcial das lesões

cutâneas, seis obtiveram cura clínica e em três houve perda de seguimento, conforme indicam os resultados da Tabela 9. Nos três casos nos quais foi observada ausência de cicatrização, houve perda de seguimento terapêutico.

Tabela 9 – Desfecho do tratamento em 28 gatos com esporotricose submetidos à criocirurgia associada ao tratamento com itraconazol de acordo com a cicatrização das lesões um mês após a criocirurgia

	Cura clínica n (%)	Abandono n (%)	Total n (%)
Cicatrização total	9 (32,1)	7 (25,0)	16 (57,1)
Cicatrização parcial	6 (21,4)	3 (10,7)	9 (32,1)
Ausência de cicatrização	0 (0,0)	3 (10,7)	3 (10,7)
Total	15 (53,5)	13 (46,5)	28 (100)

Fonte: a própria autora.

Nos 15 gatos com desfecho cura clínica, o tempo mediano de tratamento com itraconazol oral após a sessão de criocirurgia foi de 12 semanas.

6 DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o uso da criocirurgia associada ao itraconazol oral em 28 gatos com esporotricose. As principais motivações para a realização desta tese foram a escassez de estudos sobre a utilização da criocirurgia em lesões cutâneas causadas pelo *Sporothrix* spp. e a ocorrência elevada de casos de esporotricose felina no Rio de Janeiro – RJ.

O estudo de novas opções terapêuticas que possam beneficiar os pacientes, ou pelo menos uma parcela deles, é relevante, principalmente em situações epidêmicas, como a que ocorre há quase duas décadas no Rio de Janeiro em relação à esporotricose felina. As características clínico-epidemiológicas dos gatos incluídos em nosso estudo foram similares às descritas por autores que estudaram esporotricose felina no Rio de Janeiro em diferentes momentos da epizootia (SCHUBACH et al., 2004; PEREIRA et al., 2010; GREMIÃO et al., 2011; REIS et al., 2012; PEREIRA et al., 2014; REIS et al., 2016).

As lesões cutâneas ulceradas representaram a maioria das lesões submetidas à criocirurgia no presente estudo, corroborando os autores que relataram o uso da criocirurgia no tratamento da esporotricose humana e felina (FERREIRA et al., 2010; SOUZA et al., 2016). A esse respeito, o itraconazol é considerado o fármaco de eleição para o tratamento da esporotricose felina (PEREIRA et al., 2010), no entanto, casos de resposta insatisfatória à monoterapia com esse azólico são descritos (GREMIÃO et al., 2011; GREMIÃO et al., 2015), conforme observado em sete gatos em nosso estudo.

Em virtude disso, alternativas terapêuticas para melhorar a resposta clínica e ampliar as opções terapêuticas nos gatos têm sido estudadas. O uso da anfotericina B pela via intralesional em lesões refratárias ao itraconazol, hipertermia local, iodeto de potássio em cápsulas, cirurgia convencional e a criocirurgia foram descritos nos últimos anos (GREMIÃO et al., 2006; GREMIÃO et al., 2009; HONSE et al., 2010; GREMIÃO et al., 2011; REIS et al., 2012; SOUZA et al., 2016). Os efeitos adversos relacionados ao itraconazol observados no presente estudo, como a hiporexia seguida de emagrecimento e vômito, foram semelhantes àqueles descritos por Pereira et al (2010).

Apesar de a criocirurgia ter sido descrita no tratamento de neoplasias, como o carcinoma espinocelular e de outras doenças dermatológicas em humanos e animais (WITHROW, 2007; ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012), até o momento, apenas dois artigos descreveram o uso desta técnica como tratamento adjuvante na esporotricose humana (FERREIRA et al., 2011) e felina (SOUZA et al., 2016).

Os gatos incluídos em nosso estudo foram submetidos a uma única sessão de criocirurgia para a avaliação da cicatrização da lesão cutânea, bem como no estudo de Souza et al (2016). Em um estudo em seres humanos com esporotricose, o número de sessões realizadas até a obtenção da cicatrização das lesões submetidas à criocirurgia variou de uma a quatro (FERREIRA et al., 2011). Um fator limitante deste estudo foi a realização de uma única sessão de criocirurgia. Estudos que avaliem o número de sessões feitas até a obtenção da cicatrização das lesões devem ser realizados para determinar qual o protocolo criocirúrgico mais adequado para a esporotricose felina.

Em um estudo realizado com 13 gatos com esporotricose, os autores descreveram o uso de criocirurgia associada ao itraconazol em lesões cutâneas, inclusive na região nasal, e obtiveram a cura clínica em 11 gatos (SOUZA et al., 2016). O tempo mediano de tratamento com itraconazol até a cura clínica no estudo supracitado foi de 20 semanas. No presente estudo, o tempo mediano de tratamento com itraconazol nos gatos cujo desfecho foi a cura clínica foi de 12 semanas após a criocirurgia. Apesar das diferenças no critério de inclusão dos estudos, permite-se deduzir que essa diferença se deve ao fato da não execução da criocirurgia em lesões localizadas na região nasal, no presente estudo, bem como à diferença do tempo de tratamento prévio com itraconazol comparado com o estudo supracitado (SOUZA et al., 2016). O tempo de tratamento em pacientes com lesões em região nasal é longo, visto que as lesões refratárias são mais frequentes e de difícil cicatrização nessa região, conforme descrição de alguns autores (CROTHERS et al., 2009; GREMIÃO et al., 2009; PEREIRA et al., 2010; REIS et al., 2012).

Embora o procedimento criocirúrgico seja ambulatorial, em gatos requer sedação. Em virtude disso, há uma limitação em relação ao tempo e ao número de lesões a serem congeladas. Outro fator limitante para o número de lesões a serem congeladas é a necrose tecidual ocasionada pelo congelamento do tecido em lesões extensas ou múltiplas, que levam a uma grande resposta metabólica ao trauma cirúrgico (WITHROW, 2007).

A não realização da criocirurgia em região nasal no presente estudo se deveu à necessidade do uso de anestesia inalatória para a realização do procedimento, bem como da fixação de sondas nasais no pós-cirúrgico (LUCAS, 2004; WITHROW, 2007), sendo inviável a realização deste procedimento em um ambulatório.

Outro motivo para a não realização da criocirurgia em região nasal, no presente estudo, foi relacionado ao potencial de invasão e disseminação do fungo em mucosa nasal, cartilagem e tecido ósseo, descrito na esporotricose felina (GREMIÃO et al., 2015). O fato de não haver a possibilidade de delimitar a lesão a ser congelada na região nasal, bem como o risco de promover a lise do osso palatino com o congelamento agressivo e com isso promover fistulas

oronasais, também foram fatores determinantes para a não realização da criocirurgia nessa região anatômica, o que corrobora a literatura relacionada à criocirurgia (LUCAS, 2004; WITHROW, 2007; ZIMMERMAN; CRAWFORD, 2012).

Alguns autores sugerem que a criocirurgia possa ser usada com segurança como terapia única (BONIFAZ et al., 1997) ou como adjuvante a um antifúngico oral (BONIFAZ et al., 1997; FERREIRA et al., 2010), sendo uma opção efetiva no tratamento de infecções fúngicas em humanos. No entanto, não se conhece a efetividade do uso da criocirurgia utilizada isoladamente na esporotricose felina.

A combinação da criocirurgia com itraconazol oral foi eficaz no tratamento da cromoblastomicose em pacientes humanos (BONIFAZ et al., 1997; CASTRO, 2003), assim como no tratamento da esporotricose humana (FERREIRA et al., 2011). No presente estudo, no grupo dos gatos refratários, três não apresentaram a cicatrização das lesões após a criocirurgia, pois foram observadas no exame físico lesões residuais ou piora 30 dias após a sessão de criocirurgia, e em seguida houve abandono do tratamento. Permite-se sugerir que a ausência de cicatrização observada nesse grupo pode ter ocorrido por ter sido realizada apenas uma sessão de criocirurgia, visto que em dois dos três gatos as lesões estavam em processo de cicatrização, apresentando redução do tamanho. Na esporotricose humana, a cicatrização das lesões refratárias submetidas à criocirurgia ocorreu, em média, após duas sessões (FERREIRA et al., 2011).

Não há até o momento descrição do tratamento da esporotricose felina com a criocirurgia em gatos virgens de tratamento. No presente estudo, o grupo dos gatos virgens de tratamento apresentou resposta satisfatória ao protocolo proposto, e permite-se sugerir que a criocirurgia pode representar uma opção terapêutica alternativa para esses gatos, embora sejam necessários mais estudos que incluam um maior número de animais.

Os efeitos adversos relacionados à criocirurgia neste estudo foram de caráter estético, entretanto, devem ser levados em consideração antes da opção por essa técnica. A perda tecidual observada nas lesões congeladas em pavilhões auriculares pode ocorrer, visto que a criocirurgia promove a necrose do tecido-alvo e as extremidades são mais susceptíveis ao congelamento, como descrito por Zimmerman e Crawford (2012). Os riscos de ocasionar tais efeitos podem ser evitados ou diminuídos, reduzindo o tempo de congelamento para menos de 30 segundos, conforme descrito por alguns autores, porém isso pode comprometer a eficácia do tratamento, dependendo do tipo e do tamanho de lesão (COOK; GEORGOURAS, 1994; COOPER, 2001).

Em nosso estudo, a cura clínica foi observada em 53,5% dos gatos tratados, sendo esse resultado inferior quando comparado aos achados de Souza et al. (2016), no qual esse desfecho foi observado em 84,6% dos casos. No entanto, o número de animais incluídos no estudo de Souza et al. (2016) foi menor que o do presente estudo, embora os autores não tenham feito referência ao abandono de tratamento, o qual é frequentemente descrito em estudos clínicos sobre esporotricose felina (PEREIRA et al., 2010; Chaves et al, 2012).

Geralmente, o abandono ocorre quando o responsável pelo gato observa sinais de cicatrização da lesão, fato observado no presente estudo, em que a perda de seguimento ocorreu após a cicatrização total ou parcial das lesões submetidas à criocirurgia em 46,4% dos casos. Esses resultados corroboram o estudo que avaliou o abandono de tratamento em 147 gatos com esporotricose no Rio de Janeiro (CHAVES et al., 2012).

O presente estudo demonstrou que o uso da criocirurgia associado ao itraconazol oral foi capaz de cicatrizar, total ou parcialmente, a maioria das lesões cutâneas causadas pelo *Sporothrix* spp. em gatos. Embora sejam necessários estudos com diferentes abordagens metodológicas e com maior número amostral, os resultados obtidos sugerem que este protocolo terapêutico pode representar uma opção viável em gatos com esporotricose apresentando poucas lesões cutâneas e curto tempo de evolução.

7 CONCLUSÕES

A úlcera foi o tipo de lesão cutânea predominantemente submetida à criocirurgia, e o pavilhão auricular externo, a localização mais frequente;

A criocirurgia associada ao itraconazol oral foi capaz de cicatrizar, total ou parcialmente, a maioria das lesões cutâneas ocasionadas pelo *Sporothrix* spp nos gatos;

A ausência de cicatrização em lesões submetidas à criocirurgia foi observada somente no grupo de gatos com esporotricose refratária ao tratamento com itraconazol;

Os efeitos adversos relacionados à criocirurgia foram de caráter estético (leucotriquia e perda tecidual) e devem ser considerados antes da realização desta técnica;

A cura clínica foi observada em mais da metade dos gatos tratados com a associação do itraconazol e criocirurgia.

REFERÊNCIAS

BARBEE, W. C.; EWERT, A.; DAVIDSON, E. M. Animal Model Of Human Disease: Sporotrichosis. **Am J Pathol.**, 1977, v. 86, n. 1, p 281-284.

BARONI, F. A.; CAMPOS, S. G.; DIREITO, G. M. A Cat Sporotrichosis Case. **Rev Bras Med Vet.**, 1998, v. 20, n. 1, p. 25-27.

BARROS, M. B.; SCHUBACH, A. de O.; DO VALLE, A. C.; GUTIERREZ GALHARDO, M. C.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SCHUBACH, T. M. et al. Cat-Transmitted Sporotrichosis Epidemic In Rio De Janeiro, Brazil: Description Of A Series Of Cases. **Clin Infect Dis.**, 2004a, v. 38, n. 4, p. 529-535.

BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, A.; FRANCESCONI-DO-VALLE, A. C.; GUTIERREZ GALHARDO, M. C.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; SCHUBACH, T. M. P. et al. Cat-Transmitted Sporotrichosis Epidemic In Rio De Janeiro, Brazil: Description Of A Series Of Cases. **Clin Infect Dis.**, 2004b, v. 38, n. 4, p. 529-535.

BARROS, M. B.; COSTA, D. L.; SCHUBACH, T. M.; DO VALLE, A. C.; LORENZI, N. P.; TEIXEIRA, J. L. et al. Endemic Of Zoonotic Sporotrichosis: Profile Of Cases In Children. **Pediatr Infect Dis J**, 2008a, v. 27, n. 3, p. 246-50.

BARROS, M. B.; SCHUBACH, A. O.; SCHUBACH, T. M.; WANKE, B.; LAMBERT-PASSOS, S. R. An Epidemic Of Sporotrichosis In Rio De Janeiro, Brazil: Epidemiological Aspects Of A Series Of Cases. **Epidemiol Infect.**, 2008b, v. 136, n. 9, p. 1192-1196.

BARROS, M. B. L.; SCHUBACH, T. P.; COLL, J. O. et al. Esporotricose: A Evolução E Os Desafios De Uma Epidemia. **Rev Panam Salud Pública**, 2010, v. 27, n. 6, p. 455-60.

BARROS, M. B. L.; PAES, R. A.; SCHUBACH, A. O. *Sporotrix Schenkii* And Sporotrichosis. **Clin Microbiol Rev.**, 2011, p. 633-654.

BENNETT, J. E. Antimicrobial Agents: Antifungal Agents. In: BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. (Eds). **Goodman & Gilman's. The Pharmacological Basis Of Therapy**. 11th Ed. New York: Mcgraw-Hill 2006, p. 1225-1242.

BONIFAZ, A.; SOTO, M. E. et al. Treatment Of Chromoblastomycosis With Itraconazole, Cryosurgery And A Combination Of Both. **Int J Dermatol.**, 1997, v. 36, p. 542-547.

BRYNE, M. D. Cryosurgical Instrumentation. **Vet Clin N Am-Small**, 1980, v. 10, n. 4, p. 771-778.

BURKE, M.; GRAUER, G.; MACY, D. Successful Treatment Of Cutaneolymphatic Sporotrichosis In Cat With Ketaconazole And Sodium Iodine. **J Am Anim Hosp Assoc.**, 1982, v. 19, p. 542-547.

BUSTAMANTE, B.; CAMPOS, P. E. Sporotrichosis: A Forgotten Disease In The Drug Research Agenda. **Expert Rev Anti Infect Ther.**, 2004, v 2, n. 1, p. 85-94.

CASTRO, L. G. M.; PIMENTEL, E. R. A.; LACAZ, C. S. Treatment Of Chromomycosis By Cryosurgery With Liquid Nitrogen: 15 Years Experience. **Int J Dermatol.**, 2003, v. 42, p. 408-412.

CAVALCANTI, M. C. H. **Alterações Anatomopatológicas Na Região Nasal De Gatos Domésticos Com Esporotricose: Lesões Sem Tratamento E Lesões Refratárias** [Mestrado]. Rio De Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 2010.

CHAVES, A. R.; CAMPOS, M.; BARROS, M. B. L et al. Treatment Abandonment In Feline Sporotrichosis - Study Of 147 Cases. **Zoonoses And Public Health**, 2012, v. 60, p. 149-153.

CHAKRABARTI, A.; BONIFAZ, A.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; MOCHIZUKI, T.; LI, S. Global Epidemiology Of Sporotrichosis. **Med Mycol.**, 2015, v. 53, n. 1, p. 3-14.

CLINKENBEARD, K. D. Diagnostic Citology: Sporotrichosis. **Compend Contin Educ Pract Vet.**, 1991, v. 13, n. 2, p. 207-211.

CONTI-DIAZ, I. A. Epidemiology Of Sporotrichosis In Latin America. **Mycopathologia**, 1989, v 108, n. 2, p. 113-116.

COOK, D. K.; GEORGOURAS, K. Complications Of Cutaneous Cryotherapy. **Med J Aust.**, 1994, v. 161, n. 3, p. 210-213.

COOPER, I. S. Criogenic Surgery: A New Method Of Destruction Or Extirpation Of Benign And Malignant Tissue. **New Engl J Med.**, 1963, p. 268-743.

COOPER, C. Cryotherapy In General Practice. **Practitioner**, 2001, v. 245, n. 1628, p. 954-956.

COSTA, E. O.; DINIZ, L. S.; NETTO, C. F.; ARRUDA, C.; DAGLI, M. L. Epidemiological Study Of Sporotrichosis And Histoplasmosis In Captive Latin American Wild Mammals, Sao Paulo, Brazil. **Mycopathologia**, 1994, v. 125, n. 1, p. 19-22.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. H.; DENICOLA, D. B. Selected Infectious Agents. In: COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. H.; DENICOLA, D. B. (Eds.). **Diagnostic Cytology And Hematology Of The Dog And Cat**. 3rd Ed. Saint Louis: Mosby - Elsevier, 2008, p. 47-62.

CROTHERS, S. L.; WHITE, S. D.; IHRKE, P. J.; AFFOLTER, V. K. Sporotrichosis: A Retrospective Evaluation Of 23 Cases Seen In Northern California (1987-2007). **Vet Dermatol.**, 2009, v. 20, n. 4, p. 249-259.

DAWBER, R. Cryosurgery: Unapproved Uses, Dosages, Or Indications. **Clin Dermatol.**, 2002, v. 20, p. 563-570.

DAWBER, R. The Use Of Cryosurgery In Dermatology. In: KORPAN, N. N. **Basics Of Cryosurgery**. Slovenia: Springer Wien Newyork, 2001, p. 47-86.

DAVIES, C.; TROY, G. C. Deep Mycotic Infections In Cats. **J Am Anim Hosp Assoc.**, 1996, v 32, n. 5, p. 380-391.

DA CRUZ, L. C. H. Complexo *Sporothrix Schenckii*. Revisão De Parte Da Literatura E Considerações Sobre O Diagnóstico E A Epidemiologia. **Veterinária E Zootecnia**, 2013, v. 20, p. 08-28.

DE BEURMANN, L.; GOUGEROT H. **Les Sporotrichoses**. Paris: Librairie Félix Alcan, 1912.

DE BEURMANN, L.; RAMOND, L. Abcès Sous-Cutanés Multiples D'origine Mycosique. **Annales De Dermatologie Et De Syphiligraphie**, 1903, v. 4, n. 4, p. 678-685.

DIXON, D. M.; SALKIN, I. F.; DUNCAN, R. A.; HURD, N. J.; HAINES, J. H.; KEMNA, M. E. et al. Isolation And Characterization Of *Sporothrix Schenckii* From Clinical And Environmental Sources Associated With The Largest U.S. Epidemic Of Sporotrichosis. **J Clin Microbiol.**, 1991, v. 29, n. 6, p. 1106-1013.

DONADEL, K. W.; REINOSO, Y. D.; DE OLIVEIRA, J. C.; AZULAY, R. D. Esporotricose: Revisão. **An Bras Dermatol.**, 1993, v. 68, p. 45-52.

DUNSTAN, R. W.; LANGHAM, R. F.; REIMANN, K. A.; WAKENELL, P. S. Feline Sporotrichosis: A Report Of Five Cases With Transmission To Humans. **J Am Acad Dermatol.**, 1986, v. 15, n. 1, p. 37-45.

FERNANDES, G. F.; LOPES-BEZERRA, L. M.; BERNARDES-ENGEMANN, A. R.; SCHUBACH, T. M. P.; DIAS, M. A. G.; PEREIRA, S. A. et al. Serodiagnosis Of Sporotrichosis Infection In Cats By Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Using A Specific Antigen, Sscbf, And Crude Exoantigens. **Vet Microbiol.**, 2011, v. 147, n. 3-4, p. 445-449.

FERNANDEZ-SILVA, F.; CAPILLA, J.; MAYAYO E. et al. Modest Efficacy Of Voriconazole Against Murine Infections By *Sporothrix Schenckii* And Lack Of Efficacy Against *Sporothrix Brasiliensis*. **Mycoses**, 2014, v. 57, p. 121-124.

FERREIRA, C. P.; GALHARDO, M. C. G.; DO VALLE, F. Cryosurgery As Adjuvant Therapy In Cutaneous Sporotrichosis. **Braz J Infect Dis.**, 2011, v. 15, n. 2, p. 181-183.

FREITAS, D.; MIGLIANO, M.; ZANI NETO, L. Esporotricose - Observação De Caso Espontâneo Em Gato Doméstico (*F. Catus*). **Rev Fac Med Vet Univ São Paulo**, 1956, v. 5, n. 4, p. 601-604.

FREITAS, D.; MORENO, G.; SALIBA, A.; BOTTINO, J.; MÓS, E. Esporotricose Em Cães E Gatos. **Rev Fac Med Vet Univ São Paulo**, 1965, v 7, n. 2, p. 381-387.

FREITAS, D. F.; VALLE, A. C.; ALMEIDA PAES, R.; BASTOS, F. I.; GALHARDO, M. C. Zoonotic Sporotrichosis In Rio De Janeiro, Brazil: A Proctated Epidemic Yet To Be Curbed. **Clin Infect Dis.**, 2010, v. 50 , n. 3, p. 453.

GAGE, A. A.; BAUST, J. Mechanisms Of Tissue Injury In Cryosurgery. **Cryobiol.**, 1998, V. 37, n. 8, p. 171-186.

GARCIA VARGAS, A.; ORTIZ, A. S.; GÓMEZ, J. F. B. Esporotricosis En Niños. Estudio De 133 Casos En El Instituto Dermatológico De Jalisco “Dr. José Barba Rubio”. **Med Cutan Iber Lat Am.**, 2008, v. 36, n. 1, p. 18-22.

GOLDSTEIN, R. S.; HESS, P. W. Cryosurgical Treatment Of Cancer. **Vet Clin N Am.**, 1977, v. 7, p. 51-64.

GOURLEY, I. M.; VASSEUR, P. B. **General Small Animal Surgery**. Philadelphia: J.B.Lippincott Co., 1985, p. 929-939.

GRAHAN, G. F. Statistical Data On Malignant Tumors In Cryosurgery. **J Vet Surg Oncol.**, v. 983, n. 9, p. 238-246.

GREINER, T. P.; LISKA, W. D.; WITHROW, S. J. Cryosurgery. **Vet Clin N Am.**, 1975, v. 5, p. 565-581.

GREMIÃO, I. D. F.; PEREIRA, S. A.; RODRIGUES, A. M.; FIGUEIREDO, F. B.; NASCIMENTO JR, A.; SANTOS, I. B. et al. Tratamento Cirúrgico Associado À Terapia Antifúngica Convencional Na Esporotricose Felina. **Acta Sci Vet.**, 2006, v. 34, n. 2, p. 221-223.

GREMIÃO, I. D. F.; SCHUBACH, T. M.; PEREIRA, S.A.; RODRIGUES, A. M.; CHAVES, A. R.; BARROS, M. B. Intralesional Amphotericin B In A Cat With Refractory Localised Sporotrichosis. **J Fel Med Surg.**, 2009, v. 11, n. 8, 720-723.

GREMIÃO, I. D. F.; SCHUBACH, T. M. P.; PEREIRA, S. A.; RODRIGUES, A. M.; HONSE, C. O.; BARROS, M. B. L. Treatment Of Refractory Feline Sporotrichosis With A Combination Of Intralesional Amphotericin B And Oral Itraconazole. **Aust Vet J.**, 2011, v. 89, n. 9, p. 346-351.

GREMIÃO, I. D. F.; MENEZES, R. C.; SCHUBACH, T. M. P.; FIGUEIREDO, F. B.; CAVALCANTI, M. C.; PEREIRA, S. A. Feline Sporotrichosis: Epidemiological And Clinical Aspects. **Med Mycol.**, 2015, v. 53, n. 1, p. 15-21.

HEKTOEN, L.; PERKINS, C. F. Refractory Subcutaneous Abscesses Caused By *Sporothrix Schenckii*. A New Pathogenic Fungus. **J Exp Med.**, 1900, v. 55, p. 77-89.

HEIT, M. C.; RIVIERE, J. Antifungal And Antiviral Drugs. In: ADAMS, R. (Ed.). **Veterinary Pharmacology And Therapeutics**. 7th Ed. Ames: Iowa State University Press, 1995, p. 855-885.

HIRANO, M.; WATANABE, K.; MURAKAMI, M.; KANO, R.; YANAI, T.; YAMAZAKI, K.; FUKATA, T.; KUDO, T. A Case Of Feline Sporotrichosis. **J Vet Med Sci.**, 2006; v. 68, p. 283-284.

HOFFMANN, N. E.; BISCHOF, J. C. The Cryobiology Of Cryosurgical Injury. **Urology**, 2002, v. 60, n. 2, p. 40-49.

HONSE, C. O.,; RODRIGUES, A. M.; GREMIAO, I. D.; PEREIRA, S. A.; SCHUBACH, T. M. Use Of Local Hyperthermia To Treat Sporotrichosis In A Cat. **Vet Rec.**, 2010, v. 166, n. 7, p. 208-209.

HOYT JR, R. F.; SEIM III, H. B. **Veterinary Cryosurgery: Mechanisms Of Cell Death, Cryosurgical Instrumentation, And Cryogens. Part I. The Compendium On Continuing Education**, 1981, p. 426-432.

KAUFFMAN, C. A. Sporotrichosis. **Clin Infect Dis.**, 1999, v. 29, n. 2, p. 231-6; 237.

KAUFFMAN, C. A.; BUSTAMANTE, B.; CHAPMAN, S. W.; PAPPAS, P. G. Clinical Practice Guidelines For The Management Of Sporotrichosis: 2007 Update By The Infectious Diseases Society Of America. **Clin Infect Dis.**, 2007, v. 45, n. 10, p. 1255-1265.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; MINTER, D. W.; STALPERS, J. A. **Dictionary Of The Fungi**. 10th Ed. Oxon, Uk: Cab International; 2008.

KORPAN, N. N. Cryosurgery In The 21st Century. In: KORPAN, N. N. **Basics Of Cryosurgery**. Slovenia: Springerwiennewyork, 2001, p. 3-8.

KORPAN, N. N.; ZHARKOV, J. V. Cryosurgery And Cryotechnology Future Safety In Medicine In: KORPAN, N. N. **Basics Of Cryosurgery**. Slovenia: Springer Wien Newyork, 2001, p. 9-15.

KRAHWINKEL JR., D. J.; MERKLEY, D. F.; HOWARD, D. R. Cryosurgical Treatment Of Cancerous And Noncancerous Diseases Of Dogs, Horses, And Cats. **J Amvet Med Ass.**, 1976, v. 16, p. 201-207.

KWON-CHUNG, K.; BENNET, J. Sporotrichosis. In: KWON-CHUNG, K.; BENNET, J. (Eds.). **Med Mycol**. 1st Ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1992, p. 707-729.

KUFLIK, E. G. Cryosurgery For Skin Câncer: 30-Year Experience And Cure Rates. **Dermatologic Surgery**, 2004, v. 30, n. 2, p. 297-300.

LANE, J. G. Practical Cryosurgery: An Introduction For Small-Animal Clinicians. **J Small An Pract.**, 1974a, v. 15, p. 715-725.

LANE, J. G. The Clinical Applications Of Cryosurgery In Small Animal Practice. **The Veterinary Annual**, 1974b, v. 14, p. 216-219.

LARSSON, C. E., GONÇALVES, M. A.; ARAUJO, V. C.; DAGLI, M. L.; CORREA, B.; FAVA NETO, C. Feline Sporotrichosis: Clinical And Zoonotic Aspects. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 1989, v. 31, n .5, p. 351-358.

LEÃO, A.; SILVA, J.; PROENÇA, M. Sur Un Cas De Sporotrichose A Sporotrichum Beurmanni, Observé Pour La Première Fois Chez Un Mulet A Rio De Janeiro. **C R Soc Biol.**, 1934, v. 116, p. 1157-1158.

LEME, L. R.; SCHUBACH, T. M.; SANTOS, I. B.; FIGUEIREDO, F. B.; PEREIRA, S. A.; REIS, R. S. et al. Mycological Evaluation Of Bronchoalveolar Lavage In Cats With Respiratory Signs From Rio De Janeiro, Brazil. **Mycoses**, 2007, v. 50, n. 3, p. 210-214.

LOPES-BEZERRA, L. M.; SCHUBACH, A.; COSTA, R. O. *Sporothrix Schenckii* And Sporotrichosis. **An Acad Bras Cienc.**, 2006, v. 78, n. 2, p. 293-308.

LUCAS, R.; LARSSON, C. E. Crioterapia Na Clinica Veterinária: Avaliação Da Praticidade, Exequibilidade E Efetividade Em Dermatopatias De Caninos. **Anais Brasileiros De Derm.**, 2002, v. 77, p. 291-299.

LUCAS, R. **Monitorização E Mensuração Tomográfica De Diferentes Técnicas De Crioterapia Em Pele De Cães Da Raça Beagle, E Sua Relação Com As Medidas De Necrose Estimadas Pela Histopatologia.** [Doutorado]. São Paulo: Universidade De São Paulo-USP, 2004.

LUCAS, R.; LARSSON, C. E. Crioterapia Na Clínica Vetrinária: Avaliação Da Praticabilidade, E Efetividade Em Carcinoma Espinocelular De Felinos. **Braz. J Vet Res. Anim. Sci.**, São Paulo, 2006, v. 43, p. 33-42.

LUTZ, A.; SPLENDORE, A. Sobre Uma Mycose Observada Em Homens E Ratos. **Revista Médica De São Paulo**, 1907, v. 21, p. 433-450.

MACKAY, B. M.; MENRATH, V. H.; RIDLEY, M. F.; KELLY, W. R. Sporotrichosis In A Cat. **Aust Vet Pract.**, 1986, v. 16, n 1, p. 3-5.

MAIA, M.; RIBEIRO, A. E. **Curso De Criocirurgia. São Paulo:** Centro De Estudos Dermatológicos Adolpho Carlos Linderberg - Clínica De Dermatologia Da Santa Casa De São Paulo, 1997. 19p. (Apostila).

MADRID, I. M.; MATTEI, A.; MARTINS, A.; NOBRE, M.; MEIRELES, M. Feline Sporotrichosis In The Southern Region Of Rio Grande Do Sul, Brazil: Clinical, Zoonotic And Therapeutic Aspects. **Zoonoses Public Health**, 2009, v. 57, p. 151-154.

MALIK, R. Editorial: Intra-Lesional Amphotericin B - Worth A Try, Maybe For Lots Of Things, But We Need More Data! **J Feline Med Surg.**, 2009, v. 11, p. 621-623.

MARIMON, R.; CANO, J.; GENE, J.; SUTTON, D. A.; KAWASAKI, M.; GUARRO, J. *Sporothrix Brasiliensis*, *S. Globosa*, And *S. Mexicana*, Three New *Sporothrix* Species Of Clinical Interest. **J Clin Microbiol.**, 2007, v. 45, n. 10, p. 3198-3206.

MARIMON, R.; GENE, J.; CANO, J.; GUARRO, J. *Sporothrix Luriei*: A Rare Fungus From Clinical Origin. **Med Mycol.**, 2008, v. 46, n. 6, p. 621-625.

MARIMON, R.; GENE, J.; CANO, J.; TRILLES, L.; DOS SANTOS LAZERA, M.; GUARRO, J. Molecular Phylogeny Of *Sporothrix Schencki*. **J. Clin. Microbiol.**, 2006, v. 44, n. 9, p. 3251-3256.

MARQUES, L. A. C. **Criocirurgia**: Nossa Experiência. Rio De Janeiro, 1989. 112f. Dissertação [Mestrado] – Pontifícia Universidade Católica Do Rio De Janeiro, Rio De Janeiro, 1989.

MARQUES, S. A.; FRANCO, S. R.; DE CAMARGO, R. M.; DIAS, L. D.; HADDAD JUNIOR, V.; FABRIS, V. E. Sporotrichosis Of The Domestic Cat (*Felis Catus*): Human Transmission. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, 1993, v. 35, n. 4, p. 327-330.

MAWBY, D. I.; WHITTEMORE, S.; GENGER, S.; PAPICH, M. G. Bioequivalence Of Orally Administered Generic, Compounded And Innovator-Formulated Itraconazole In Healthy Dogs. **J Vet Intern Med.**, 2014, v. 28, p. 72-77.

MEDLEAU, L.; MARKS, M. A.; BROWN, J.; BORGES, W. L. Clinical Evaluation Of A Cryptococcal Antigen Latex Agglutination Test For Diagnosis Of Cryptococcosis In Cats. **J Am Vet Med Assoc.**, 1990, v. 196, n. 9, p. 1470-1473.

MIRANDA, L. H. M.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; QUINTELA, L. P. et al. Feline Sporotrichosis: Histopathological Profile Of Cutaneous Lesions And Their Correlation With Clinical Presentation. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis.**, 2013, v. 36, n. 4, 425-432.

MIRANDA, L. H. M.; SANTIAGO, M. A.; SCHUBACH, T. M., MORGADO, F. N.; PEREIRA, S. A.; OLIVEIRA, R. V.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.

Severe Feline Sporotrichosis Associated With An Increased Population Of Cd8low Cells And A Decrease In Cd4+ Cells. **Med Mycol.**, 2016, v. 54, n. 1, p. 29-39.

MONTENEGRO, H.; RODRIGUES, A. M.; DIAS, M. A. G.; DA SILVA, E. A.; BERNARDI, F.; DE CAMARGO, Z. P. Feline Sporotrichosis Due To *Sporothrix Brasiliensis*: An Emerging Animal Infection In São Paulo, Brazil. **Bmc Vet Res.**, 2014, v. 10, p. 269.

MORAES, A. M.; VELHO, P. E. N. F.; MAGALHÃES, R. F. Criocirurgia Com Nitrogênio Líquido E As Dermatoses Infecciosas. **An Bras Dermatol.**, 2008, v. 83, n. 4, p. 285-298.

MULLER, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. In: MULLER, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. **Fungal And Algal Skin Diseases**. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology, 7th Ed. St. Louis, Mo.: Elsevier/Saunders, 2013, p. 249-252.

NANDI, S. K.; HALDER, S.; GHOSH, D.; GUHA, S.; HAZRA, S.; DUTTAGUPTA, B.; SANKI, S. Successful Cryosurgical Treatment Of Adenocystic Variety Of Basal Cell Tumor In Dog. **Indian Veterinary Journal**, 2002, v. 79, p. 953-955.

NOBRE, M. O.; CASTRO, A. P.; CAETANO, D.; SOUZA, L. L.; MEIRELES, M. C. A.; FERREIRO, L. Recurrence Of Sporotrichosis In Cats With Zoonotic Involvement. **Rev Iberoam Micol.**, 2001, v. 18, p. 137-140.

NORSWORTHY, G. D.; MILLER, D. C.; RADICKE, L. E.; LIMMER, B. L. Cryosurgery In Small Animal Practice. **Canine Practice**, 1977, v. 4, n. 4, p. 18-22.

NUSBAUM, B. P.; GULBAS, N.; HORWITZ, S. N. Sporotrichosis Acquired From A Cat. **J Am Acad Dermatol.**, 1983, v. 8, n. 3, p. 386-391.

PEREIRA, S. A.; PASSOS, S. R. L.; SILVA, J. N.; GREMIÃO, I. D. F.; FIGUEIREDO, F. B.; TEIXEIRA, J. L. et al. Response To Azolic Antifungal Agents For Treating Feline Sporotrichosis. **Vet Rec.**, 2010, v. 166, p. 290-294.

PEREIRA, S. A.; MENEZES, R. C.; GREMIÃO, I. D.; SILVA, J. N.; HONSE, C. D. E O.; FIGUEIREDO, F. B. et al. Sensitivity Of Cytopathological Examinatin In The Diagnosis Of Feline Sporotrichosis. **J Feline Med Surg.**, 2011, v. 13, n. 4, p. 220-223.

PEREIRA, S. A.; SCHUBACH, T. M.; GREMIAO, I. D.; SILVA, D. T.; FIGUEIREDO, F. B.; ASSIS, N. V. et al. Aspectos Terapêuticos Da Esporotricose Felina. **Acta Sci Vet.**, 2009, v. 37, n. 4, p. 331-341.

PEREIRA, S. A.; GREMIAO, I. D.; KITADA, A. A.; BOECHAT, J. S.; VIANNA, P. G.; SCHUBACH, T. M. The Epidemiological Scenario Of Feline Sporotrichosis In Rio De Janeiro, State Of Rio De Janeiro, Brazil. **Rev Soc Bras Med Tropical**, 2014, v. 47, n. 3, p. 392-393.

PIMENTEL, E. R. A. **Controle Histológico Pelo Método Micrográfico De Mohs Em Carcinoma Basocelular Tratado Pela Criocirurgia Com Nitrogênio Líquido.** Tese [Doutorado] – Faculdade De Medicina, Universidade De São Paulo, São Paulo, 1997.

PIMENTEL, E. R. A.; CASTRO, L. G. M.; CUCÉ, L. C.; SAMPAIO, S. A. P. Treatment Of Chromomycosis By Cryosurgery With Liquid Nitrogen: A Report On Eleven Cases. **Dermatol Surg Oncol.**, 1989, v. 15, n. 1.

PODKONJAK, K. R. Veterinary Cryotherapy. 1. A Comprehensive Look At Uses, Principles, And Successes. **Vet Med Small An Clin.**, 1982, v. 77, p. 51-64.

READ, S. I.; SPERLING, L. C. Feline Sporotrichosis. Transmission To Man. **Arch Dermatol.**, 1982, v. 118, n. 6, p. 429-431.

REIS, E. G.; GREMIÃO, I. D.; KITADA, A. A.; ROCHA, R. F.; CASTRO, V. S.; BARROS, M. B.; MENEZES, R. C.; PEREIRA, S. A.; SCHUBACH, T. M. Potassium Iodide Capsule Treatment Of Feline Sporotrichosis. **J Feline Med Surg.**, 2012, v. 14, n. 6, p. 399-404.

REIS, E. G.; SCHUBACH, T. M.; PEREIRA, S. A.; SILVA, J. N.; CARVALHO, B. W.; QUINTANA, M. S.; GREMIÃO, I. D. Association Of Itraconazole And Potassium Iodide In The Treatment Of Feline Sporotrichosis: A Prospective Study. **Med Mycol.**, 2016.

RIPPON, J. Sporotrichosis. In: RIPPON, J. (Ed.). **Medical Mycology - The Pathogenic Fungi And The Pathogenic Actinomycetes.** 3rd Ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1988, p. 325-352.

ROBINSON, D.; HALPERIN, N.; NEVO, Z. Two Freezing Cycles Ensure Interface Sterilization By Cryosurgery During Bone Tumor Resection. **Cryobiology**, 2001, v. 43, p. 4-10.

RODRIGUES, A. M.; DE MELO TEIXEIRA, M.; DE HOOG, G. S.; SCHUBACH, T. M.; PEREIRA, S. A.; FERNANDES, G. F.; DE CAMARGO, Z. P. Phylogenetic Analysis Reveals A High Prevalence Of *Sporothrix Brasiliensis* In Feline Sporotrichosis Outbreaks. **Plos Negl Trop Dis.**, 2013, v. 7, n. 6, E2281.

RODRIGUES, M. A.; HOOG, G. S.; PIRES, D. C.; BRILHANTE, R. S.; SIDRIM, J. J.; GADELHA, M. F. et al. Genetic Diversity And Antifungal Susceptibility Profiles In Causative Agents Of Sporotrichosis. **Bmc Infect Dis.**, 2014, v. 14, p. 219.

RODRIGUES, A. M.; FERNANDES, G. F.; ARAUJO, L. M.; DELLA TERRA, P. P.; DOS SANTOS, P. O.; PEREIRA, S. A. et al. Proteomics-Based Characterization Of The Humoral Immune Response In Sporotrichosis: Toward Discovery Of Potential Diagnostic And Vaccine Antigens. **Plos Negl Trop Dis.**, 2015, v. 9, n. 8, E0004016.

ROSSER, E.; DUNSTAN, R. Sporotrichosis. In: GREENE, C. E. (Ed.). **Infectious Diseases Of The Dog And Cat**. 3rd Ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006.

RUBINSKY, B. Cryosurgery. **Annual Reviews In Biomedical Engineering**, 2000, v. 2, p. 157-187.

SAXE, N.; MCDONALD, D. Cryosurgery. **The Speculum**, 1976, v. 2, p. 17-22.

SCHENCK, B. On Refractory Subcutaneous Abscesses Caused By A Fungus Possibly Related To The *Sporotricha*. **Bull Johns Hopkins Hosp.**, 1898, v. 240, n. 93, p. 286-290.

SCHUBACH, T. M.; VALLE, A. C.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; MONTEIRO, P. C.; REIS, R. S.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M. et al. Isolation Of *Sporothrix Schenckii* From The Nails Of Domestic Cats (*Felis Catus*). **Med Mycol.**, 2001, v. 39, n. 1, p. 147-149.

SCHUBACH, T. M.; DE OLIVEIRA SCHUBACH, A, DOS REIS, R. S.; CUZZI-MAYA, T.; BLANCO, T. C.; MONTEIRO, D. F. et al. *Sporothrix Schenckii* Isolated From Domestic Cats With And Without Sporotrichosis In Rio De Janeiro, Brazil. **Mycopathologia**, 2002, v. 153, n. 2, p. 83-86.

SCHUBACH, T. M.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.; PELLON, I. V.; FIALHO-MONTEIRO, P. C.; REIS, R. S. et al. Haematogenous Spread Of *Sporothrix Schenckii* In Cats With Naturally Acquired Sporotrichosis. **J Small Anim Pract.**, 2003a, v. 44, n. 9, p. 395-398.

SCHUBACH, T. M.; SCHUBACH, A. DE O.; CUZZI-MAYA, T.; OKAMOTO, T.; REIS, R. S.; MONTEIRO, P. C. et al. Pathology Of Sporotrichosis In 10 Cats In Rio De Janeiro. **Vet Rec.**, 2003b, v. 52, n. 6, p. 172-175.

SCHUBACH, T. M.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.; BARROS, M. B.; FIGUEIREDO, F. B.; CUZZI, T. et al. Evaluation Of An Epidemic Of Sporotrichosis In Cats: 347 Cases (1998-2001). **J Am Vet Med Assoc.**, 2004, v. 224, n. 10, p.1623-1629.

SCHUBACH, A. O.; SCHUBACH, T. M.; BARROS, M. B. Epidemic Cat-Transmitted Sporotrichosis. **N Engl J Med.**, 2005, v. 353, n. 11, p. 1185-1186.

SCHUBACH, A.; BARROS, M. B.; WANKE, B. Epidemic Sporotrichosis. **Curr Opin Infect Dis.**, 2008, v. 21, n. 2, p. 129-133.

SCHUBACH, T. M. P.; MENEZES, R. C.; WANKE, B. Sporotrichosis. In: SCHUBACH, T. M. P.; MENEZES, R. C.; WANKE, B. **Infectious Diseases Of The Dog And Cat.** 4th Ed Elsevier. St Louis, Missouri; 2012, p. 645-650.

SEIM III, H. B. Mechanisms Of Cold-Induced Cellular Death. **Vet Clin N Am-Small**, 1980; v.10, n. 4, p. 755-762.

SEIM III, H. B.; HOYT JR., R. F. Veterinary Cryosurgery. Part II. **Principles Of Application. The Compendium On Continuing Education**, 1982, p. 695-702.

SHIBATA, K.; NAGATA, M.; AKAKUMA, O.; NANKO, H. Canine Epidermal Nevus Treated With Cryotherapy. **Vet Derm.**, 2002, v. 13, n. 4, p. 211.

SILVA, S. M.; RABELO, P. F. B.; GONTIJO, N. F.; RIBEIRO, R. R.; MELO, M. N.; RIBEIRO, V. M.; MICHALICK, M. S. M. Primeiro Relato De Infecção De *Lutzomyia Longipalpis* Por *Leishmania (Laishmania) Infantum* De Um Gato Infectado Naturalmente Do Brasil. **Parasitol Vet.**, 2010, v. 174, n. 1-2, p. 150-154.

SILVA, D. T.; MENEZES, R. C.; GREMIÃO, I. D. F.; SCHUBACH, T. M. P.; BOECHAT, J. S.; PEREIRA, S. A. 2012. Esporotricose Zoonótica: Procedimentos De Biossegurança. **Acta Sci Vet.**, v. 40. n. 4, p. 1067.

SILVA, N. J.; PASSOS, S. R. L.; MENEZES, R. C.; GREMIÃO, I. D. F.; SCHUBACH, T. M. P.; OLIVEIRA, J. C.; FIGUEIREDO, A. B. F.; PEREIRA, S. A. Diagnostic Accuracy Assessment Of Cytopathological Examination Of Feline Sporotrichosis. **Med Mycol.**, 2015; v. 53, n. 8, p. 880-884.

SILVERMAN, S. G.; TUNCALI, K.; ADAMS, D. F.; VANSONNENBERG, E.; ZOU, K. H.; KACHER, D. F.; MORRISON, P. R.; JOLESZ, F. A. M. R. Iimaging-Guided Percutaneous Cryotherapy Of Liver Tumors: Initial Experience. **Radiology**, 2000, v. 217, p. 657-664.

SINGER, J. I.; MUNCIE, J. E. Sporotrichosis; Etiologic Considerations And Report Of Additional Cases From New York. **N Y State J Med.**, 1952, v. 52, n. 17:1, p. 2147-2153.

SOUZA, C. P.; LUCAS, R.; RAMADINHA, R. H. R.; PIRES, T. B, C. P. Cryosurgery In Association With Itraconazole For The Treatment Of Feline Sporotrichosis. **J Feline Med Surg.**, 2016, v. 18, n. 2, p. 137-143.

WELSH, R. D. Sporotrichosis. **J Am Vet Med Assoc.**, 2003, v. 223, n. 8, p. 1123-1126.

WERNER, A. H.; WERNER, B. E. Sporotrichosis In Man And Animal. **Int J Dermatol.**, 1994, v. 33 , n. 10, p. 692-700.

WITHROW, S. J. General Principles Of Cryosurgical Technique. **Vet Clin Nor Am. Small Animal Practice**, 1980, v. 10, p. 779-786.

WITHROW, S. J.; Cryosurgery. In: WITHROW, S.J.; MACEWEN, E.G. **Small Animal Clinical Oncology**. 4th Ed., St. Louis: Saunders Elsevier, 2007, p. 275-279.

ZACARIAN, S. A. Cryogenics: The cryolesion and the pathogenesis of cryonecrosis. In: ZACARIAN, S. A. (Ed). **Cryosurgery of Skin Cancer and Cutaneous Disorders**. St Louis: Mosby, 1985, p. 1-30.

ZIMMERMAN, E. E.; CRAWFORD, P. Cutaneous cryosurgery. **Am Fam Physician**, 2012, v. 86, n. 12, p. 1118-1124.