



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

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

ISABELLA DIB FERREIRA GREMIÃO

**TRATAMENTO DA ESPOROTRICOSE FELINA COM A
ASSOCIAÇÃO DE ANFOTERICINA B INTRALESIONAL E
ITRACONAZOL ORAL**

RIO DE JANEIRO
2010

Tratamento da esporotricose felina com a
associação de anfotericina B intralesional e
itraconazol oral

ISABELLA DIB FERREIRA GREMIÃO

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

Orientadoras: Mônica Bastos de Lima Barros e Tânia Maria Valente Pacheco.

Rio de Janeiro
2010

À minha mãe Magali e ao meu pai Odir (*in
memorian*), meu amor e minha gratidão.

AGRADECIMENTOS

Àquelas pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste estudo, e, em especial:

Às doutoras Mônica Bastos de Lima Barros e Tânia Maria Valente Pacheco pela orientação, amizade, incentivo e confiança em meu desempenho profissional. Obrigada por me fazerem acreditar e seguir em frente nos momentos mais difíceis para a conclusão deste estudo;

Aos amigos do Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (LAPCLIN-DERMZOO) – IPEC/Fiocruz , Fabiano Borges Figueiredo, Rodrigo Caldas Menezes e Sandro Antonio Pereira pelos anos de convívio e auxílio prestado durante a realização do estudo;

Às amigas do LAPCLIN-DERMZOO, Adriana Chaves, Amanda Akemi, Carla Honse, Denise Amaro, Denise Torres, Elaine Waite, Érica Guerino, Ingrid Paes, Jéssica Nunes, Leandra Faria, Monique Campos, Roseli Pereira e Tuanne Rotti;

Aos estagiários, bolsistas e alunos de capacitação profissional do LAPCLIN-DERMZOO, em particular Alessanda Pereira, Ana Caroline, Artur Velho e Carolina Leal;

Ao Dr Armando de Oliveira Schubach, pelo acompanhamento, correções e sugestões em todas as etapas deste estudo;

Ao professor e companheiro Amary Nascimento Júnior pelo apoio, incentivo, carinho e paciência;

Às professoras Alessanda Lousada e Maria Palmira Gremião pela amizade e colaboração na revisão de texto;

À amiga Aline Rodrigues pela amizade e pelo apoio sempre demonstrado e que tornou possível a realização deste estudo

Ao amigo Raphael Rocha pelo companheirismo, comprometimento e apoio técnico.

À Coordenação de Ensino do IPEC/Fiocruz, especialmente ao Marcelo Eduardo Timóteo e Suze Rosa Sant` Anna.

À minha família e amigos, por terem compreendido tantas horas dedicadas ao estudo. Às minhas irmãs Isadôra e Renata Dib e ao meu filho Nicolas Dib Gremião Nascimento. Agradeço por vocês fazerem parte da minha vida.

Aos proprietários que aceitaram incluir seus animais no estudo.

Gremiao, I. D. F. **Tratamento da esporotricose felina com a associação de anfotericina B intralesional e itraconazol oral.** Rio de Janeiro; 2010. 76f. Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

RESUMO

Na esporotricose felina, os protocolos terapêuticos atualmente preconizados para o tratamento apresentam uma efetividade baixa e casos de falha terapêutica com itraconazol têm sido descritos. O presente estudo foi realizado no Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (LAPCLIN-DERMZOO) do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC)/FIOCRUZ com o objetivo de descrever a resposta terapêutica ao uso da anfotericina B intralesional associada ao itraconazol oral. A população do estudo foi constituída por gatos com lesões cutâneas localizadas residuais de esporotricose refratária ao itraconazol oral, acompanhados no LAPCLIN-DERMZOO no período de 2007 a 2009. Os animais foram submetidos a administrações intralesionais de anfotericina B semanalmente até a completa cicatrização da lesão, havendo um período de tolerância de duas semanas entre as aplicações. A terapia antifúngica oral (itraconazol 100 mg/dia) foi mantida durante o estudo e por um mês após a cicatrização da lesão. Vinte e três (85,2%) dos 27 gatos incluídos no estudo apresentaram remissão das lesões, sendo que 17 (73,9%) obtiveram cura clínica e em 6 (26,1%) as lesões recidivaram no mesmo local. Em 1 (3,7%) animal houve estagnação do quadro clínico e em 3 casos (11,1%) houve abandono do tratamento. Os efeitos adversos clínicos observados foram a formação de abscesso estéril em 4 (14,8%) e edema local em 3 (11,1%), independente do volume de anfotericina B administrado. Não foram observados efeitos adversos laboratoriais relacionados à anfotericina B. De acordo com os resultados obtidos, a associação de anfotericina B intralesional e itraconazol oral em gatos com esporotricose refratária ao itraconazol isoladamente pode ser benéfica, aumentando os índices de cura.

Palavras-chave: 1. Gatos 2. Esporotricose 3. Tratamento 4. Intralesional 5. Anfotericina B 6. Itraconazol

Gremiao, I. D. F. **Treatment of feline sporotrichosis with a combination of intralesional amphotericin B and oral itraconazole.** Rio de Janeiro; 2010. 76p. Thesis [Doctor Thesis in Clinical Research on Infectious Diseases] – Evandro Chagas Clinical Research Institute.

ABSTRACT

In feline sporotrichosis, the currently recommended treatment protocols for treatment have a low effectiveness and cases of treatment failure with itraconazole have been described. The present study was carried out at the Laboratory of Clinical Research on Dermatозoonosis in Domestic Animals (LAPCLIN-DERMZOO), Evandro Chagas Clinical Research Institute (IPEC)/FIOCRUZ in order to describe the therapeutic response to the use of intralesional amphotericin B associated with oral itraconazole. The study included cats with residual cutaneous localised lesions of sporotrichosis refractory to oral itraconazole that had been followed up at LAPCLIN-DERMZOO, between 2007 and 2009. The animals received weekly administrations of intralesional amphotericin B until complete healing of the lesion. It was accepted the maximum range of up to two weeks between the applications. Oral antifungal therapy (itraconazole 100 mg/day) was maintained throughout the period of administration of intralesional amphotericin B and during one month after the clinical cure. Twenty-three (85.2%) of the 27 treated cats achieved clinical remission, 17 (73.9%) of which were cured and in 6 (26.1%) the lesions recurred in the same site. Lack of clinical response was observed in 1 (3.7%) animal and 3 (11.1%) animals abandoned treatment. The clinical adverse effects observed in the animals during treatment were the formation of a sterile abscess in 4 (14.8%) and edema in 3 (11.1%), irrespective of the volume of amphotericin B administered. There were no laboratory adverse effects related to amphotericin B. According to the results obtained in this study, the combination of intralesional amphotericin B and oral itraconazole in cats with sporotrichosis refractory to itraconazole alone can be beneficial, increasing cure rates.

Palavras-chave: 1. Cats 2. Sporotrichosis 3. Treatment 4. Intralesional 5. Amphotericin B 6. Itraconazole

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IM - Intramuscular

IV – Intravenosa

Fiocruz – Fundação Oswaldo Cruz

IPEC – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas

LAPCLIN-DERMZOO – Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses
em Animais Domésticos

SC – Subcutânea

Sumário

1. Introdução
 - 1.1. Esporotricose
 - 1.2. Histórico
 - 1.3. *Sporothrix schenckii*
 - 1.4. Aspectos epidemiológicos
 - 1.5. Esporotricose felina
 - 1.6. Aspectos zoonóticos
 - 1.7. Diagnóstico da esporotricose felina
 - 1.8. Aspectos terapêuticos da esporotricose felina
 - 1.8.1. Iodetos
 - 1.8.2. Cetoconazol
 - 1.8.3. Itraconazol
 - 1.8.4. Terbinafina
 - 1.8.5. Anfotericina B
 - 1.8.6. Tratamento cirúrgico
 - 1.8.6. Termoterapia local
2. Justificativa
3. Objetivos
 - 3.1. Objetivo geral
 - 3.2. Objetivos específicos
4. Materiais e métodos
 - 4.1. Desenho do estudo
 - 4.2. Definição dos termos utilizados
 - 4.3. Casuística
 - 4.4. Critério de cura
 - 4.5. Cálculo amostral
 - 4.6. Procedimentos do estudo
 - 4.6.1. Visita de inclusão do paciente
 - 4.6.2. Exame clínico
 - 4.6.3. Contenção química
 - 4.6.4. Coleta de sangue
 - 4.6.5. Coleta de amostras da lesão
 - 4.6.6. Coleta de secreção nasal
 - 4.6.7. Documentação fotográfica
 - 4.6.8. Administração de anfotericina B intralesional
 - 4.6.8.1. Preparo da anfotericina B
 - 4.6.8.2. Aplicação da anfotericina B
 - 4.6.9. Seguimento terapêutico
 - 4.6.10. Seguimento pós-terapêutico
 - 4.6.11. Desfechos
 - 4.6.12. Considerações éticas
 - 4.6.13. plano de análise dos dados

5. Artigo científico publicado e manuscrito aceito para publicação	1
5.1. Intralesional amphotericin B in a cat with refractory localised sporotrichosis	
5.2. Treatment of refractory feline sporotrichosis with a combination of intralesional amphotericin B and oral itraconazole.	
5.2.1. Registro de aceite no periódico <i>Australian Veterinary Journal</i>	
7. Conclusões	
8. Referências bibliográficas	

ANEXO A - Tabelas de graus de toxicidade laboratorial e clínica

ANEXO B - Termo de consentimento livre e esclarecido

ANEXO C - Editorial publicado no periódico *Journal of Feline Medicine and Surgery*

1. Introdução

1.1. Esporotricose

A esporotricose é uma micose subaguda a crônica causada pelo *Sporothrix schenckii* geralmente limitada aos tecidos cutâneo e subcutâneo, podendo ocorrer comprometimento linfático adjacente e assumir, em raros casos, uma forma disseminada (Kwon-Chung e Bennet, 1992; Kauffman, 1999).

Afeta os seres humanos e uma grande variedade de animais como eqüídeos, cães, gatos, raposas, bovinos, suínos, camelos, ratos, camundongos, chipanzés (Rippon, 1988; Costa et al., 1994; Baroni et al., 1998).

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 *S. schenckii* (Rippon, 1988; Kwon-Chung e Bennet, 1992). Pode ocorrer também indiretamente pelo contato da pele lesada com matéria orgânica ou solo contaminados com o agente (Conti-Diaz, 1989). Em casos de esporotricose pulmonar, o modo de transmissão é presumivelmente a inalação de conídios (Kauffman, 1999).

A transmissão através de arranhadura, mordedura ou o contato com o exsudato das lesões de gatos infectados vem ganhando importância devido ao grande número de casos descritos no Brasil (Barros et al., 2008b).

1. 2. Histórico

O primeiro caso comprovado de esporotricose humana foi descrito em 1898 por Benjamin Schenck em Baltimore, Estados Unidos. O fungo, que foi isolado de um paciente apresentando lesão linfangítica no membro superior direito, foi 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 pelos autores de *Sporothrix schenckii*.

Em 1903 foi observado o primeiro caso humano de esporotricose na França e relatada a utilização de iodeto de potássio como tratamento (De Beurmann e 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 doença, na qual foram descritas as principais formas clínicas e a terapêutica dessa micose.

No Brasil, Lutz e Splendore (1907) descreveram o primeiro caso de infecção natural animal em ratos e relataram cinco casos da doença em humanos assim como o tratamento destes com iodeto de potássio.

No Rio de Janeiro, Terra e Rabelo descreveram o primeiro caso humano em 1912, no período de quatro anos, mais casos foram registrados em outros estados brasileiros (Donadel et al., 1993) e o primeiro caso de esporotricose animal foi relatado em uma mula (Leão et al., 1934).

A primeira ocorrência de esporotricose felina naturalmente adquirida no Brasil foi relatada por Freitas et al. (1956). A série de oito casos felinos publicada pelos mesmos autores correspondeu ao maior número até aquele momento (Freitas et al., 1965). Em 1986, Dunstan et al. (1986a) publicaram a maior casuística até 1980, envolvendo humanos e gatos.

No Rio de Janeiro, a primeira descrição de um caso felino ocorreu em 1998 (Baroni et al., 1998). Desde esse período, o Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) vem acompanhando a ocorrência epidêmica dessa micose na região metropolitana do Rio de Janeiro, que é considerada a primeira epidemia associada a transmissão zoonótica na literatura mundial (Barros et al., 2008b).

1. 3. *Sporothrix schenckii*

Sporothrix schenckii, agente etiológico da esporotricose, é um fungo dimórfico, anamórfico e alguns estudos sugerem a possibilidade de sua forma sexuada ser *Ophiostoma* sp (Kirk et al., 2008).

Este fungo é geralmente encontrado em estado de saprofitismo em substratos vegetais, quando em condições favoráveis de temperatura e umidade (Rippon, 1988). O fungo já foi isolado em espinhos, feno, palha, musgo do esfagno, madeira e solo rico em matéria orgânica em decomposição (Kauffman, 1999).

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 e Bennet, 1992).

Na forma saprofítica e em cultivos incubados à temperatura ambiente, cresce como colônias filamentosas inicialmente de cor 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 e Bennet, 1992).

Embora os fatores de virulência de *S. schenckii* não estejam completamente esclarecidos, parecem estar ligados à produção de melanina e de proteinases extracelulares, à termo-tolerância e à presença de componentes presentes em sua parede (Kauffman, 1999; Schubach et al., 2005; Lopes-Bezerra et al., 2006).

Apesar da susceptibilidade *in vitro* de *S. schenckii* frente a antifúngicos ter sido demonstrada em diversos estudos, poucos têm correlacionado a atividade *in vitro* com as apresentações clínicas e a terapêutica da esporotricose humana, e são ausentes na esporotricose animal. Isolados clínicos de *S. schenckii* de gatos do Rio de Janeiro, sugeriram resistência ao itraconazol, com altos valores das Concentrações Inibitórias Mínimas em comparação aos de seres humanos estudados e aos da literatura. (Kohler et al., 2004).

1. 4. Aspectos epidemiológicos

A esporotricose apresenta distribuição mundial, ocorrendo principalmente em regiões de clima tropical e temperado. Atualmente é rara na Europa e freqüente na África, Japão, Austrália e Américas. É a micose subcutânea mais comum na América Latina (Costa et al., 1994), principalmente no Brasil (Schubach et al., 2008).

Epidemias 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 e 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 esfagno contaminado (Dixon et al., 1991).

Desde 1998, na região metropolitana do Rio de Janeiro, vem ocorrendo uma epidemia de esporotricose relacionada a gatos domésticos, sendo a primeira epidemia da doença sob a forma de zoonose encontrada na literatura, na qual o gato 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 *S. schenckii* em suas atividades ocupacionais ou de lazer, na forma zoonótica é o fungo que entra no ambiente do ser humano através dos gatos (Barros et al., 2004b).

Segundo Barros et al. (2009), o principal entrave para o controle desta epidemia é a falta de um programa de saúde pública investindo no controle da doença animal.

1.5. Esporotricose felina

Os felinos são muito susceptíveis ao fungo *S. schenckii*, pois 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 lambar-se e de enterrar suas fezes, os expõe a infecções e os possibilita a transmitir a infecção a outros animais, inclusive ao ser humano (Larsson et al., 1989; Davies e Troy, 1996; Barros et al., 2004a).

Gatos adultos, não castrados, com acesso irrestrito à rua são os mais acometidos e envolvidos na dispersão do agente no ambiente (Dunstan et al., 1986a; Davies e Troy, 1996; Baroni et al., 1998).

As formas clínicas da esporotricose em humanos são classificadas em: cutânea-fixa, linfocutânea, extracutânea e disseminada (Rippon, 1988). No entanto, a utilização dessa classificação torna-se difícil na esporotricose felina, pois os gatos podem apresentar mais de uma forma da doença concomitantemente (Schubach et al., 2004). Conforme os mesmos autores, a esporotricose felina apresenta um amplo espectro clínico, variando desde uma infecção subclínica, passando por lesão cutânea única até formas múltiplas e sistêmicas fatais, acompanhadas ou não de sinais extracutâneos, principalmente as manifestações respiratórias.

As lesões cutâneas mais frequentes em gatos com esporotricose são nódulos, gomas e úlceras, recobertas ou não por crostas. (Scott et al., 1996). Extensas áreas de necrose podem se desenvolver e expor ossos e músculos (Burke et al., 1982). Segundo Rosser e Dunstan (2006), pode ocorrer o envolvimento do sistema linfático, podendo ser ou não aparente durante o exame clínico.

As lesões em gatos com esporotricose geralmente se localizam na cabeça, extremidades dos membros e cauda, principalmente na região nasal. Linfadenite, linfangite nodular ascendente e lesões mucosas podem estar presentes nos gatos com esporotricose, além de febre, desidratação, perda de peso e anorexia (Schubach et al., 2004; Rosser e Dunstan, 2006).

A presença de sinais respiratórios é freqüente em gatos com esporotricose, principalmente espirros, os quais podem estar associados a lesões localizadas na região nasal, inclusive em mucosa (Schubach et al., 2004; Crothers et al., 2009). Estudos sugerem que a presença de desses sinais respiratórios pode preceder a observação de lesões cutâneas em gatos (Schubach et al., 2002; Schubach et al., 2004), além de estarem associados à falência terapêutica e óbito (Pereira et al., 2010).

As alterações hematológicas e bioquímicas descritas em gatos com esporotricose são compatíveis com as encontradas em doenças infecciosas. Anemia, leucocitose com neutrofilia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, aumento dos níveis séricos de creatinina, uréia, alanino-aminotransferase e aspartato-transaminase foram relatadas principalmente em gatos com múltiplas lesões cutâneas (Schubach et al., 2004).

Em felinos é comum observar lesões cutâneas disseminadas, além de sinais clínicos que indicam envolvimento sistêmico, diferente do que ocorre no ser humano, no qual a forma sistêmica da esporotricose é rara e acomete principalmente indivíduos imunocomprometidos (Barros et al., 2003; Schubach et al., 2004).

A disseminação do fungo para diversas partes do corpo do gato pode ocorrer por auto-inoculação ao coçar-se e/ou lambar-se, podendo, da mesma forma, o fungo ser introduzido em sua cavidade oral e/ou trato digestivo (Schubach et al., 2001). Barbee et al. (1977) demonstraram a disseminação para as vísceras em 50% dos gatos experimentalmente infectados, mesmo sem evidências de sinais de doença sistêmica.

Em estudo realizado em dez gatos apresentando lesões cutâneas esporotricóticas disseminadas, Schubach et al. (2003b) demonstraram a doença sistêmica através do isolamento de *S. schenckii* das lesões cutâneas e secreções nasais *in vivo* e de órgãos internos *post mortem*. Em seis, dos dez animais incluídos no estudo, o tratamento com antimicóticos não preveniu a progressão da doença.

A presença de *S. schenckii* no sangue foi detectada em gatos apresentando lesões cutâneas localizadas ou múltiplas, com ou sem sinais indicativos de envolvimento sistêmico, sugerindo que a esporotricose nesses animais apresente um comportamento semelhante ao da forma sistêmica em humanos (Schubach et al., 2003a).

Autores sugerem que nos felinos, assim como nos seres humanos, a imunodeficiência possa ter um papel importante na gravidade da doença e na necessidade de tratamento prolongado (Davies e Troy, 1996). No entanto, em gatos com esporotricose co-infectados ou não com os vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e da Leucemia Felina (FeLV), não foram observadas diferenças significativas na resposta terapêutica aos azólicos (Schubach et al., 2004; Pereira et al., 2010).

1. 6. Aspectos zoonóticos

Ratos, tatus, cães e outros animais foram relacionados à transmissão zoonótica do agente (Kauffman, 1999). Entretanto, os gatos são os principais animais envolvidos na transmissão desse fungo ao ser humano (Barros et al., 2008a; Barros et al., 2008b).

Em 1952, Singer e Muncie descreveram um caso humano possivelmente relacionado ao manuseio de um gato com esporotricose.

O potencial zoonótico do *S. schenckii* é reconhecido desde 1980 quando Read e Sperling (1982) descreveram um surto envolvendo cinco indivíduos expostos a um gato com a micose. Posteriormente foram descritos outros surtos domiciliares ou profissionais abrangendo felinos, seus proprietários, veterinários e/ou auxiliares (Larsson et al., 1989; Marques et al., 1993; Werner e Werner, 1994; Nobre et al., 2001; Madrid et al., 2009).

Os dois primeiros casos de esporotricose humana relacionados a gatos doentes diagnosticados no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) 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, 1503 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).

Esse elevado potencial zoonótico deve-se à riqueza parasitária encontrada nas lesões cutâneas dos felinos (Werner e Werner, 1994; Welsh, 2003), diferente do que ocorre em outras espécies como o ser humano e o cão, nas quais é difícil a visualização das estruturas leveduriformes aos exames citopatológico e histopatológico (Scott et al., 1996). Dessa forma, o gato pode ser considerado o único animal doméstico próximo ao ser humano que oferece um alto risco de transmissão da doença (Dunstan et al., 1986a).

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 da esporotricose felina

O diagnóstico diferencial da esporotricose felina deve incluir outras infecções fúngicas como a criptococose e a histoplasmose, neoplasias, doenças imunomediadas, doenças alérgicas (Welsh, 2003) e infecções bacterianas como micobacterioses (Silva et al., 2010).

O diagnóstico definitivo da esporotricose requer o isolamento de *S. schenckii* em meio de cultura. Os exames citopatológico e histopatológico são úteis no diagnóstico presuntivo dessa micose nos felinos (Dunstan et al., 1986a).

Diferentes amostras biológicas podem ser coletadas para isolamento do fungo de acordo com o tipo e a localização da lesão (Schubach et al., 2002). Secreção nasal e exsudato de lesões cutâneas ou mucosas podem ser obtidos através de um *swab* estéril (Schubach et al., 2003b; Silva et al., 2008).

Também podem ser enviados para o cultivo fragmentos de lesões cutâneas ou mucosas obtidos por biópsia, aspirado do conteúdo purulento ou seropurulento proveniente de abscesso não ulcerado (Schubach et al., 2004), sangue (Schubach et al., 2003a) e lavado broncoalveolar (Leme et al., 2007).

A cultura é realizada inicialmente em meio de ágar Sabouraud dextrose ou ágar Mycosel a 25°C. Após o crescimento do fungo na forma filamentosa, este é inoculado em meio de infusão de cérebro e coração a 37°C visando conversão para forma de levedura (Rippon, 1988).

Os elementos fúngicos são numerosos em gatos, ao contrário das outras espécies animais (Scott et al., 1996). Em virtude dessa riqueza parasitária, a avaliação citológica conduz a um fácil diagnóstico da esporotricose felina (Clinkenbeard, 1991; Cowell et al., 2008). É um exame de simples execução, baixo custo, rápido e que pode ser usado rotineiramente em estabelecimentos veterinários no diagnóstico presuntivo da doença (Cowell et al., 2008). As colorações do tipo Romanowsky, como o método panótico rápido, são rotineiramente utilizadas (Meinkoth et al., 2008).

Os *imprints* provenientes de lesões cutâneas de gatos com esporotricose costumam revelar inúmeras estruturas leveduriformes redondas, ovais ou em forma de charuto, que medem 3 a 5 μ de diâmetro e 5 a 9 μ de comprimento, circundadas por um halo claro, no interior de macrófagos, neutrófilos ou no meio extracelular (Welsh, 2003).

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 (PAS) e Grocott, sendo as duas últimas técnicas especiais apropriadas para a visualização de fungos (Dunstan et al., 1986a).

Ao exame histológico, 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 sugestivas de *S. schenckii*, redondas, ovais ou em forma de charuto, algumas vezes exibindo brotamento, com diâmetro entre 5 e 7 μ (Schubach et al., 2003b).

Cavalcanti (2010) observou a presença de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* no exame histopatológico de gatos com lesões refratárias ao itraconazol oral, apesar do prolongado tempo de tratamento.

1. 8. Aspectos terapêuticos da esporotricose felina

O tratamento de infecções micóticas em animais representa um desafio aos veterinários, uma vez que a maioria dos agentes antifúngicos sistêmicos apresenta efeitos adversos (Welsh, 2003), além do número limitado de agentes antifúngicos orais disponíveis, quando comparado ao número de fármacos antibacterianos (Gupta et al., 2002; Nobre et al., 2002).

Os dois maiores estudos sobre terapêutica da esporotricose felina foram realizados no Rio de Janeiro (Schubach et al., 2004; Pereira et al., 2010).

Schubach et al. (2004) avaliaram diferentes esquemas terapêuticos em 266 gatos doentes. A cura clínica foi obtida em 68 gatos (25,4%) e a duração do tratamento variou de 16 a 80 semanas (mediana = 36 semanas), sendo que os efeitos adversos mais observados foram anorexia, vômito e diarreia. Entretanto, o número de abandonos e mortes por diferentes causas somou 69,7%.

Pereira et al. (2010) compararam a eficácia e a segurança do tratamento com cetoconazol ou itraconazol por via oral em 773 gatos com esporotricose, dos quais 30,8% obtiveram a cura, 13,6% foram a óbito por diferentes causas e 55,6% abandonaram ou permaneciam em tratamento. A mediana do tempo de tratamento (28 semanas) foi menor que a do estudo anterior, o que poderia ser explicado pelo maior tamanho de amostra além de uma melhor estrutura de tratamento. Efeitos adversos ocorreram em 39,6% dos gatos, sendo a hiporexia o mais freqüente (31,3%).

A dificuldade na administração de medicamentos por via oral aos gatos domésticos, a falta de condições para manter os animais confinados, além dos gastos com transporte urbano e a dificuldade para transportar os animais em veículos coletivos podem explicar parcialmente o grande percentual de abandonos e mortes relatados.

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 a requisição de eutanásia pelo responsável do gato (Schubach et al., 2004).

1.8.1. Iodetos

Tradicionalmente, o tratamento da esporotricose felina envolve, a administração de iodetos por via oral (Burke et al., 1982; Dunstan et al., 1986a; Peaston, 1993; Werner e Werner, 1994; Davies e Troy, 1996; Nakamura et al., 1996; Sykes et al., 2001; Welsh, 2003). O iodeto de potássio vem sendo utilizado no tratamento dessa micose desde o início do século XX (De Beurmann e Ramond, 1903). Embora seu mecanismo de ação ainda seja desconhecido, esse agente se mostra efetivo nos casos de pacientes humanos com lesões cutâneas e linfocutâneas (Kauffman et al., 2007).

Porém, os felinos são bastante sensíveis às preparações de iodetos, podendo ser observados sinais de iodismo, os quais incluem anorexia, vômitos, depressão, hipotermia e colapso cardiovascular, entre outros (Burke et al., 1982; Werner e 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).

Devido aos efeitos adversos relacionados aos iodetos, foi recomendada a sua substituição por antifúngicos mais efetivos e seguros como os azólicos cetoconazol e itraconazol (Welsh, 2003).

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, se tornou um importante agente antifúngico usado em medicina veterinária (Medleau et al., 1990), sendo amplamente utilizado devido à facilidade de administração, eficácia e custo (Heit e Riviere, 1995).

Este fármaco apresenta toxicidade seletiva baixa, isto é, inibe tanto o citocromo P-450 do fungo quanto o dos mamíferos, resultando na ocorrência de efeitos adversos, sendo os mais citados: anorexia, depressão, náuseas, vômitos, diarreia e aumento freqüente das enzimas hepáticas (Heit e Riviere, 1995; Rosser e Dunstan, 2006).

Existem relatos de tratamento da esporotricose felina utilizando cetoconazol (Burke et al., 1982; Dunstan et al., 1986a; Nakamura et al., 1996; Nobre et al., 2001). Schubach et al. (2004) relataram a cura de gatos apresentando esporotricose com a utilização de cetoconazol na dose de 5 a 10 mg/kg a cada 24 horas via oral. Entretanto, existem relatos de insucesso do cetoconazol 10 mg/kg no tratamento de gatos com esporotricose (Marques et al., 1993; Nobre et al., 2001).

Pereira et al. (2010) trataram 598 gatos com cetoconazol oral 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 gastrintestinais, 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 derivado triazólico sintético que apresenta um largo espectro de ação nas micoses superficiais e sistêmicas, incluindo a esporotricose (Nobre et al., 2002). Micoses como dermatofitose, blastomicose, criptococose, esporotricose, aspergilose, alternariose, feohifomicose e histoplasmoses foram tratadas com sucesso com itraconazol (Jaham et al., 2000).

Após a síntese do itraconazol, na década de 1980, surgiram os primeiros relatos desse fármaco no tratamento da esporotricose humana (Findlay e Vismer, 1986; Restrepo et al., 1986).

O itraconazol é considerado o fármaco de escolha para humanos (Kauffman et al., 2007) e felinos com esporotricose (Peaston, 1993; Rosser e Dunstan, 2006), devido à sua efetividade (Pereira et al. 2010; Schubach et al., 2004) e por estar menos associado a efeitos adversos quando comparado aos demais agentes antifúngicos (Bustamante e Campos, 2001; Sykes et al., 2001).

O mecanismo de ação dos compostos azólicos está baseado na inibição da biossíntese do ergosterol, que é importante para a integridade e a manutenção da função da membrana celular dos fungos. Os azóis inibem a incorporação do acetato de ergosterol, inibindo a enzima lanosterol-14- α -demetilase, por interferência no citocromo P-450 da levedura, ocasionando alterações na fluidez e permeabilidade da membrana citoplasmática do fungo, o que se traduz por inibição do crescimento fúngico, originando alterações morfológicas que resultam em necrose celular (Jaham et al., 2000; Nobre et al., 2002).

A atividade antifúngica desses fármacos é primariamente fungistática, podendo ser fungicida em doses elevadas. A ação fungicida requer concentrações elevadas e, por este motivo, se não for administrada a dose fungistática por tempo suficiente, podem ocorrer recidivas (Catalán e Montejo, 2006).

O itraconazol é 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 e Riviere, 1995).

Embora apresente alta afinidade e seletividade pelas enzimas do citocromo celular fúngico (Heit e Riviere, 1995), o itraconazol apresenta potencial hepatotóxico, sendo recomendado o monitoramento das enzimas hepáticas durante o tratamento (Medleau et al., 1995; Rosser e Dunstan, 2006).

A absorção do itraconazol, por via oral, é altamente dependente do pH gástrico, sendo recomendada a sua administração juntamente com refeições ricas em lipídios. Sua administração com fármacos que reduzem a acidez estomacal como antagonistas dos receptores H₂ (cimetidina e ranitidina) ou bloqueadores da bomba de prótons (omeprazol) deve ser evitada (Jaham et al., 2000).

O fármaco apresenta ampla distribuição na maioria dos tecidos, em concentrações superiores as encontradas no plasma, o que explica a sua eficácia no tratamento de um grande número de micoses (Bustamante e Campos, 2004; Catalán e Montejo, 2006). Os níveis do fármaco podem ser três a dez vezes maiores na pele que no plasma, com forte ligação a queratina, resultando em concentrações na pele que podem ser detectadas duas a quatro semanas após a suspensão da terapia (Jaham et al., 2000).

No plasma, como 99% do fármaco liga-se as proteínas, o mesmo não é bem distribuído nos fluidos corpóreos com baixa concentração de proteínas como é o caso do fluido cérebro-espinhal, saliva e fluidos oculares (Heit e Riviere, 1995; Jaham et al., 2000). Seu metabolismo é hepático, sendo eliminado predominantemente pela via biliar. Porém, alguns de seus metabólitos são encontrados na urina (Heit e Riviere, 1995; Catalán e Montejo, 2006).

As vantagens relacionadas a este fármaco levaram a uma intensa utilização, sendo, atualmente, um dos antifúngicos mais utilizados nas clínicas médicas humana e veterinária. Todavia, devido principalmente ao seu uso indiscriminado, têm sido observados freqüentes relatos de isolados fúngicos resistentes com conseqüentes falhas terapêuticas e remissão de enfermidades micóticas (Meinerz et al., 2007).

O itraconazol vem sendo utilizado com sucesso no tratamento de diversas micoses em gatos (Greene, 2006), e alguns estudos relatam sua utilização na esporotricose felina (Peaston, 1993; Larsson, 2000; Nobre et al., 2001; Schubach et al., 2004; Corgozinho et al., 2006; Pereira et al., 2010).

O itraconazol está disponível em cápsulas e soluções para uso oral e administração intravenosa (Bennet, 2006). Entretanto, no Brasil, é encontrado somente na forma de cápsulas de 100 mg de uso humano e de 10, 25, 50 e 100 mg de uso veterinário (Anvisa; Pereira et al., 2009).

A dose de 10 a 20 mg/kg/dia foram sugeridas para o tratamento da maioria das infecções fúngicas em cães e gatos (Jaham et al., 2000). A dose recomendada para gatos com criptococose é de 50 ou 100mg/dia (Hirano et al., 2006). De acordo com Rosser e Dunstan (2006), a dose oral de itraconazol recomendada para esporotricose varia de 5 a 10 mg/kg, uma ou duas vezes ao dia.

O tempo de tratamento é prolongado e a administração do fármaco deve ser mantida por no mínimo um mês após a cura clínica em gatos (Welsh, 2003). No entanto, organismos fúngicos podem permanecer localmente nas lesões cicatrizadas por até seis meses (Macdonald et al., 1980).

O itraconazol foi utilizado com sucesso no tratamento de um gato com esporotricose refratária ao iodeto de sódio (Peaston, 1993). Alguns autores obtiveram êxito no tratamento da esporotricose felina utilizando itraconazol 5-10mg/kg/dia (Schubach et al., 2004; Jesus e Marques, 2006; Madrid et al., 2009). Pereira et al., (2010) relataram a cura clínica em 38,3% dos gatos tratados com itraconazol oral 30-100 mg a cada 12 ou 24 h (8,3-27,7mg/kg/dia). O tempo mediano de tratamento até a cura clínica foi de 26 semanas e 30,9% dos gatos apresentaram efeitos adversos gastrintestinais.

Os principais efeitos adversos descritos em humanos envolvem o trato gastrintestinal, sendo os mais comumente relatados náuseas, vômitos, dor e desconforto abdominal (Catalán e Montejo, 2006; Meinerz et al., 2007). O efeito adverso mais comum em gatos é a anorexia além de vômitos, perda de peso e depressão (Rosser e Dunstan, 2006).

A frequência de efeitos adversos gastrintestinais em gatos tratados com itraconazol é inferior a relatada com cetoconazol (Pereira et al., 2010). Entretanto não foram observados efeitos adversos em gatos tratados com itraconazol 10mg/kg/dia via oral durante três meses enquanto que gatos tratados com a mesma dose de cetoconazol desenvolveram anorexia e perda de peso (Medleau et al., 1990).

Em gatos, 50 a 100 mg/kg/dia produziram efeitos adversos dependentes da dose. Foram verificadas anorexia, náusea e hepatotoxicidade que geralmente tiveram remissão após suspensão do tratamento (Scott et al., 1996). Na ausência de sinais clínicos de hepatotoxicidade, as concentrações enzimáticas tendem a voltar ao normal após a suspensão do fármaco (Taboada, 2000).

Apesar do tratamento com itraconazol ser conveniente para os proprietários (Malik et al., 2004) e efetivo em muitos pacientes felinos, em alguns casos não se observa a resposta clínica esperada representada pelos baixos índices de cura (Schubach et al., 2004; Pereira et al., 2010).

Crothers et al. (2009) descreveram o caso de um felino com esporotricose tratado com itraconazol via oral na dose de 10mg/kg/dia por um período de 4 anos. Este animal apresentava lesões localizadas na região nasal até o óbito (causa não relacionada).

Cavalcanti (2010) descreveu as alterações anatomopatológicas de 23 gatos com esporotricose apresentando lesões na região nasal refratárias ao tratamento com itraconazol (33-100 mg/dia).

Segundo Malik et al. (2004), a região nasal nos felinos, além de não possuir um suprimento sanguíneo rico, também não apresenta tecido mole próximo para facilitar a reconstrução em procedimentos cirúrgicos, dificultando a cura de infecções localizadas nesta região.

Em casos de esporotricose felina com falência terapêutica ao itraconazol, a associação de anfotericina B desoxicolato, por via subcutânea ou intralesional, pode ser uma alternativa (Pereira et al., 2009).

1.8.4. Terbinafina

A terbinafina é um antifúngico pertencente à classe das alilaminas, que inibe a ação da esqualeno epoxidase, enzima importante na formação do ergosterol na membrana fúngica, resultando em morte celular (Nobre et al., 2002).

É efetiva no tratamento das dermatofitoses e de infecções superficiais causadas por leveduras em cães e gatos. Tem sido utilizada com sucesso no tratamento de *Microsporium canis* nos gatos, sendo o vômito o único efeito adverso relatado, o qual é reduzido com a administração concomitante com o alimento (Greene, 2006).

Este fármaco tem demonstrado alta atividade in vitro contra isolados de *S. schenckii* (Meinerz et al., 2007) Entretanto, o seu potencial terapêutico tem sido confirmado somente para esporotricose cutânea e linfocutânea em seres humanos (Kauffman et al., 2007). A dose recomendada para cães e gatos varia de 20 a 40 mg/kg a cada 24 ou 48 horas (Jaham et al., 2000).

1. 8.5. Anfotericina B

A anfotericina B, um antibiótico macrolídeo poliênico produzido naturalmente pelo actinomiceto *Streptomyces nodosus*, foi inicialmente isolado de amostras de vegetação na Venezuela (Gold et al., 1956, Vandeputt et al., 1956). Este fármaco vem sendo utilizado desde o final dos anos 50 e em 1965, foi o primeiro agente antifúngico aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) (Wu, 1994; Fillipin e Souza, 2006).

Apesar de sua elevada toxicidade e da introdução dos antifúngicos azólicos na década de 80, a anfotericina B permanece como o tratamento de escolha para a maioria das micoses sistêmicas devido a sua potência e amplo espectro de ação (Khoo et al., 1994; Fillipin e Souza, 2006).

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), no tratamento de micoses sistêmicas severas ou progressivas, criptococose e outras micoses sistêmicas resistentes a imidazólicos (Greene, 2006) além de formas disseminadas de esporotricose felina (Dunstan et al., 1986b; Peaston, 1993). 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).

O mecanismo de ação da anfotericina B se dá pela sua interação com o ergosterol, esteróide constituinte exclusivo da parede celular fúngica, levando a formação de poros através das membranas lipídicas. A alteração da permeabilidade celular permite o escape de constituintes citoplasmáticos, principalmente íons potássio, que provoca um desequilíbrio eletrolítico e homeostático, resultando na inibição do crescimento e eventualmente em morte celular (Fillipin e Souza, 2006). A anfotericina B não possui atividade antibacteriana, uma vez que esses organismos não contêm esteróis (Bennet, 2006).

Embora esse fármaco possua maior afinidade pelo ergosterol, muitos efeitos tóxicos que lhe são atribuídos são resultados da sua capacidade em ligar-se ao colesterol e outros constituintes da membrana celular de mamíferos (Fillipin e Souza, 2006; Martinez, 2006).

A atividade da anfotericina B é máxima na faixa de pH variando entre 6,0 e 7,5, decrescendo em pH mais baixo. Sua ação fungicida ou fungistática é dependente da concentração sérica e tecidual do fármaco e da susceptibilidade do patógeno (Khoo et al., 1994).

A anfotericina B em baixas concentrações liga-se de forma reversível à membrana do fungo, independente do gasto energético, provocando aumento da permeabilidade da mesma para íons de potássio e causando o efeito fungistático com inibição do crescimento fúngico. Em doses elevadas, sua ligação à membrana do fungo requer energia e é irreversível, ocasionando a morte celular através de alterações das propriedades físico-químicas dessa membrana, que se torna permeável aos constituintes essenciais da célula (fosfatos, nucleotídeos, proteínas) (Lyman e Walsh, 1992). Segundo os mesmos autores, além de seu efeito antifúngico, este fármaco apresenta ação imunoestimulante, tanto sobre a imunidade humoral como sobre a celular. Assim, este fármaco atua sobre os microrganismos como também aumenta a resistência do hospedeiro à infecção, podendo aumentar as propriedades fungicidas dos macrófagos (Lyman e Walsh, 1992).

A anfotericina B encontra-se disponível para injeção como um pó liofilizado estéril e as preparações intravenosas convencionais contém anfotericina B liofilizada combinada ao desoxicolato e tampão fosfato (Bennet, 2006). Por ser pouco solúvel na maioria dos solventes e insolúvel em soluções aquosas de pH neutro, o desoxicolato é empregado para aumentar a solubilização do fármaco (Fillipin e Souza, 2006).

Após a reconstituição, as soluções concentradas (5 mg/mL) em água para injetáveis, mantém sua potência durante 24 horas ou por uma semana sob refrigeração, se protegidas da luz conforme recomendações do fabricante.

As soluções de alguns eletrólitos, soluções ácidas ou com conservantes não devem ser usadas, pois causam precipitação desse fármaco (Bennet, 2006). Segundo Whiting (1967), a anfotericina B só é ativa em solução aquosa como recomendado pelo fabricante, sendo incompatível com anestésicos locais e tanto a procaína quanto a lidocaína causam a precipitação do fármaco.

Como a anfotericina B é irritante quando administrada pela via intramuscular (IM) e pouco absorvida no trato gastrointestinal, deve ser administrada pela via IV (Greene, 2006). Após infusão IV, se separa do desoxicolato e se liga extensivamente a proteínas séricas. A maior parte do fármaco deixa o espaço vascular e liga-se a membranas contendo colesterol. As maiores concentrações são encontradas no fígado, baço, rins e pulmões, havendo um pouco de acúmulo na musculatura ou tecido adiposo. A anfotericina B penetra pouco no líquido cefalorraquidiano, humor vítreo ou líquido amniótico normal. Por causa da extensa ligação nos tecidos, existe uma fase terminal de eliminação com meia vida de cerca de 15 dias (Heit e Riviere, 1995; Greene, 2006; Bennet, 2006).

A maior parte do fármaco é metabolizada localmente nos tecidos e parcialmente no fígado. A excreção é biliar (15%) e renal (4-5%), podendo ser detectada na urina por até sete semanas após a suspensão da terapia (Khoo et al., 1994; Catalán e Montejo, 2006; Greene, 2006).

Uma grande variação de doses de anfotericina B é descrita na literatura veterinária. Em um protocolo para cães e gatos, uma dose total de 4 -12 mg/kg/IV foi dividida em 0,15-0,5 mg/kg/dia, em dias alternados. Em casos refratários, doses diárias altas de 1 mg/kg foram administradas duas ou três vezes por semana. Doses que excederam 2 mg/kg causaram insuficiência renal em cão. Em caso de terapia combinada, deve-se utilizar a dose total mais baixa do fármaco (4 mg/Kg) (Heit e Riviere, 1995).

Scott et al. (1996) recomendam uma dosagem de 0,5 mg/kg para os cães em dias alternados e 0,15 mg/kg para os gatos, os quais parecem ser mais sensíveis aos efeitos nefrotóxicos do fármaco.

Durante o tratamento o surgimento de resistência é raro. Entretanto, recidivas podem ocorrer quando seu uso é descontinuado (Greene, 2006).

Em estudos de interações medicamentosas *in vitro* e *in vivo* com anfotericina B e azólicos, os resultados variaram entre indiferença, sinergismo e antagonismo (Cuenca-Estrella, 2004). Entretanto, a combinação de anfotericina B com antifúngicos orais foi mais eficaz que quando utilizada isoladamente em infecções fúngicas (Silva et al., 1999; Barchiese et al., 2000), com a redução na duração do tempo de tratamento e na dose acumulativa de anfotericina B necessária para a cura (Bennett et al., 1979).

Em pacientes humanos, doses superiores a 1 mg/kg/dia de anfotericina B desoxicolato, são mais efetivas que as convencionais, porém seu uso é limitado pelos efeitos tóxicos. Para contornar estes problemas foram desenvolvidas as formulações lipídicas de anfotericina B menos tóxicas. Três dessas formulações estão disponíveis para o uso médico: lipossomal, em dispersão coloidal e em complexo lipídico (Fillipin e Souza, 2006; Martinez, 2006). Porém, o custo do tratamento com essas formulações lipídicas é alto, o que limita seu uso clínico em humanos (Fillipin e Souza, 2006) e animais (Greene, 2006).

Em cães com blastomicose tratados com complexo lipídico de anfotericina B, foi demonstrada a efetividade do tratamento e ausência de efeitos nefrotóxicos (Nobre et al., 2002).

A anfotericina B produz efeitos adversos agudos em seres humanos, relacionados à infusão e tardios, por toxicidade celular e tecidual. As reações imediatas à infusão ocorrem freqüentemente e decorrem da liberação de interleucinas e prostaglandinas, manifestando-se como febre, calafrios, tremores, náusea e vômitos e dor de cabeça (Fillipin e Souza, 2006; Martinez, 2006). Também podem ocorrer trombose venosa periférica ou tromboflebite (Khoo et al., 1994).

Alterações cardiovasculares como hipotensão, hipertensão e arritmia cardíaca foram observadas com menor frequência, sendo que as arritmias geralmente estão associadas à velocidade de infusão rápida (Khoo et al., 1994; Fillipin e Souza, 2006).

Hipocalcemia, hipernatremia, diurese aumentada, disfunção renal e efeitos tóxicos sobre a medula óssea como anemia, leucopenia e trombocitopenia foram associados a administrações repetidas (Fillipin e Souza, 2006).

A anemia pode ocorrer devido à inibição da produção de eritropoetina pelos rins ou por ação direta do fármaco sobre a medula óssea (Catalán e Montejo, 2006). A leucopenia e trombocitopenia são raramente observados, sendo que a última pode ocorrer devido a uma alteração na função plaquetária, embora esse fato seja raro (Khoo et al., 1994; Bennet, 2006).

A nefrotoxicidade, definida como o aumento nos níveis séricos de creatinina, é considerada o efeito adverso mais relevante e o principal fator limitante para sua utilização (Catalán e Montejo, 2006). Segundo Filippin e Souza (2006), o tratamento com anfotericina B IV quase sempre resulta em algum grau de disfunção renal, comprovada através de achados laboratoriais, que varia em gravidade em função da dose total.

O mecanismo preciso do efeito da anfotericina B nas células renais permanece incerto, mas parece ser devido a uma lesão tubular direta através do efeito vasoconstritor nas arteríolas renais levando a redução do fluxo sanguíneo tubular e glomerular. Contudo, a diminuição da função renal geralmente é reversível após a interrupção da administração do fármaco quando a dose acumulativa não ultrapassar quatro gramas (Khoo et al., 1994; Yoo et al., 2006). Não foi observada hepatotoxicidade com nenhuma das formulações de anfotericina B (Bennet, 2006).

A maioria dos cães submetidos ao tratamento com a anfotericina B desoxicolato manifesta febre leve a moderada por até 36 horas após a administração. A toxicidade renal é um efeito adverso importante em cães, não sendo rapidamente reversível pela suspensão do fármaco como ocorre em humanos (Nobre et al., 2002).

Em estudos de toxicidade em animais, uma única infusão IV de 4,5 a 6,8 mg/kg durante um tempo de 30 minutos produziu depressão, ataxia e congestão pulmonar e renal em gatos. Em cães, infusões de 3,5 a 4,8 mg/kg causaram ataxia e severa hemorragia conjuntival e intestinal, particularmente do duodeno. Infusões diárias de 1,6 a 3,5 mg/kg causaram lesões gastrointestinais similares (Littman et., 1958).

Além da nefrotoxicidade, sua utilização em animais é limitada pela dificuldade da técnica de administração pela via IV conforme alguns guias terapêuticos, na qual se recomenda infusão lenta num grande volume de solução glicosada 5% em dias alternados ou três vezes por semana durante várias semanas (Malik et al., 1996).

Poucos são os relatos sobre a utilização da anfotericina B na esporotricose felina. Foram descritos três casos de terapia com anfotericina B via IV em gatos com esporotricose. O primeiro paciente apresentou progressão das lesões após três semanas de tratamento com iodeto de potássio, sendo tratado com anfotericina B IV durante uma semana. O gato foi submetido a eutanásia devido à piora do quadro clínico (Dunstan et al., 1986a). Em outro caso, o uso da anfotericina B foi limitado pela nefrotoxicidade, apesar de uma resposta satisfatória inicial (Mackay et al., 1986). Um terceiro paciente foi submetido a eutanásia devido a sinais neurológicos durante terapia combinada de anfotericina B IV e 5-fluorocitosina (Nusbaum et al., 1983).

Devido à dificuldade técnica de administração do fármaco pela via IV e devido ao risco de ocorrência de alterações vasculares e circulatórias, Malik et al. (1996) recomendam infusões subcutâneas (SC) de anfotericina B na dose de 0,5 a 0,8 mg/kg diluída em 400 mL de NaCl 0,45% e glicose 2,5%, associada a antifúngicos orais. Segundo estes autores, este protocolo é mais conveniente e efetivo para terapia de longa duração principalmente quando comparado à infusão IV, uma vez que o acesso venoso pode tornar-se limitado. No mesmo estudo, a duração da terapia com anfotericina B IV foi limitada devido a trombose das veias cefálica e jugular em um gato com criptococose.

Os mesmos autores relatam que a via SC implica na absorção gradual do fármaco na circulação sanguínea, evitando que a mesma atinja níveis séricos elevados, diminuindo com isso as chances do aparecimento de efeitos tóxicos e permitindo a utilização de doses mais elevadas que as utilizadas pela via IV, as quais terão efeito prolongado no plasma. Esta terapia foi utilizada em três gatos com criptococose, aplicada duas a três vezes por semana durante vários meses. Todos os animais apresentaram melhora, porém continuaram com o tratamento antifúngico oral até a alta clínica.

A associação de itraconazol oral (100 mg/dia) e anfotericina B 0,5 mg/kg via SC foi utilizada no tratamento de 17 gatos com esporotricose refratária ao tratamento com azólicos. A cura clínica ocorreu em 35,3% dos casos e a formação de abscesso estéril local ocorreu em 23,5% (Rodrigues, 2009).

Conforme Malik et al. (1996), efeitos adversos podem ocorrer relacionados à administração de anfotericina B SC, dentre eles irritação local ou abscesso estéril. Nestes estudos, os autores observaram a formação de abscesso estéril em um cão após a infusão de anfotericina B SC numa concentração superior a 20 mg/mL, porém tais efeitos não foram observados nos gatos do mesmo estudo.

Em casos de infecções fúngicas localizadas, estudos recomendam a infiltração local de anfotericina B. A mesma foi descrita em humanos com cromoblastomicose (Costello et al., 1959; DeFeo and Harber, 1959; Whiting, 1967; Clark, 1979; Siva et al, 1999), cromomicose (Takahashi et al., 1981), altemariose (Iwatsu 1988; Vieira et al, 1998) e esporotricose (Robertson, 1967). Em animais, a utilização local de anfotericina B foi descrita num equino com conidiobolomicose (Zamos et al, 1996) e num gato com criptococose (Malik et al., 1996).

Suas vantagens incluem as altas concentrações teciduais que podem ser obtidas, poucos efeitos sistêmicos e conservação dos tecidos (Whiting, 1967; Takahashi and Maie, 1981; Silva et al., 1999). Segundo Whiting (1967), as principais desvantagens são as soluções concentradas de anfotericina B, as quais são irritantes para os tecidos podendo levar a dor, edema, infecção secundária e tromboflebite. Além disso, a administração de anfotericina B intralesional em quantidades adequadas é limitada pela dor e pela fibrose, sendo que a última prejudica a ação do anestésico local, pois impõe limites por obstrução do espaço tecidual.

Costello et al. (1959) relataram o primeiro caso de cromoblastomicose causado por *Hormodendrum pedrosoi* em paciente humano tratado com infiltração local de anfotericina B no cotovelo, com resposta clínica favorável. Com o intuito de reduzir a dor produzida pela injeção, a anfotericina B (50 mg) foi dissolvida em 10 mL de solução aquosa de procaína 2%, obtendo-se uma concentração de 5 mg/mL de anfotericina B. Uma série de injeções de anfotericina B infiltradas sob a lesão do cotovelo foi feita semanalmente ou

duas vezes por semana num total de oito injeções sendo a freqüência de injeções determinada pela intensidade e da reação local após cada injeção. O volume administrado variou de 4 a 9 mL (20 a 45 mg), sendo a média de 7 mL. Durante um período de 12 semanas foram administradas 8 injeções num total de 49 mL (245 mg) de anfotericina B. A natureza verrucóide e friável da pele afetada permitiu uma perda da anfotericina B estimada em não mais de 5 mL do volume total injetado. Quatorze meses de observação após o tratamento, não havia evidências clínicas e laboratoriais de recidiva.

De Feo e Harber (1959) relataram o segundo caso de cromoblastomicose em paciente humano, de 22 anos de duração causado por *H. pedrosoi*, tratado com sucesso com infiltração local de anfotericina B. Foram utilizados 5 mg de anfotericina B diluídos em 1mL de procaína 2%. Quatro injeções semanais de 15 mg (3 mL) foram administradas diretamente na lesão, num total de 60 mg. As injeções locais causaram dor localizada, leve aumento da temperatura e anorexia. Não foi observado aumento de uréia sérica. Os resultados de exames hematológicos de rotina e urina encontravam-se dentro dos limites de normalidade. Três meses após o tratamento, ocorreu a cicatrização total da área de ulceração, sendo a primeira vez que a úlcera cicatrizou em cinco anos. Seis meses após o tratamento, não havia evidências clínicas nem laboratoriais de recidiva.

Outro caso de cromoblastomicose em paciente humano tratado com anfotericina B foi descrito por Clark (1979). O fármaco foi infiltrado diretamente na lesão localizada na orelha e um ano após o término do tratamento, não havia sinais da doença. A lesão foi tratada com anfotericina B (50 mg) diluída em 4 mL de lidocaína 1%. Foram administrados 25 mg (2 mL) intralesionalmente sobre toda a área a cada 15 dias num total de cinco injeções (125 mg de anfotericina B). Logo após o início da terapia, a região se tornou purulenta. Após cada injeção esta reação foi controlada com compressas úmidas e pomada de neomicina e esteróide.

Robertson (1967) relatou uma resposta favorável a anfotericina B intralesional em um caso de esporotricose humana refratária ao tratamento com iodeto de potássio na face. Apesar de uma melhora inicial com regressão parcial das lesões durante as três primeiras semanas de tratamento com iodeto, ocorreu estagnação do quadro clínico apesar de doses máximas do

fármaco, as quais produziram sinais de iodismo. Pequenas quantidades de anfotericina B numa concentração de 5 mg/mL foram introduzidas localmente na lesão iniciando-se na borda da bochecha esquerda. Ocorreu uma melhora acentuada, sendo administrado um total de 150 mg de anfotericina B.

Silva et al. (1999) demonstraram as vantagens da associação do itraconazol e anfotericina B intralesional em três casos de cromoblastomicose causada por fungos pertencentes a espécie *Fonsecaea pedrosoi*, refratária ao itraconazol sistêmico.

No primeiro caso, o paciente foi tratado inicialmente com itraconazol (200mg/dia) e por não haver sinais de remissão clínica após três meses, foi instituída anfotericina B intralesional associada ao itraconazol via oral na mesma dose. A anfotericina B (50 mg) foi diluída em 10 mL de cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstrictor, obtendo-se uma concentração de 5 mg/mL. Foram feitas três aplicações nas bordas da lesão uma vez por semana ou quinzenalmente, dependendo da reação local. Após 11 semanas de tratamento, a lesão regrediu totalmente restando pequenos pontos cicatriciais. Após 14 meses de acompanhamento não foram observadas alterações.

No segundo caso, após três meses de tratamento com itraconazol sem resposta satisfatória (com a lesão mantendo sinais de atividade), a anfotericina B, preparada da mesma forma do caso anterior, foi administrada por via intralesional semanalmente durante seis meses, havendo melhora do quadro clínico. O paciente evoluiu com aparecimento de eczema pruriginoso na cicatriz e após seis meses de tratamento com corticóide tópico, houve regressão de toda sintomatologia. No terceiro caso foi instituído o tratamento com anfotericina B intralesional na mesma dose semanalmente associada ao itraconazol após seis meses de uso desse fármaco com o quadro clínico estagnado. Após 48 semanas, houve cicatrização total da lesão. Segundo esses autores, quando os pacientes com cromoblastomicose não responderem ao uso do itraconazol sistêmico como medicação isolada, poderão ser beneficiados com essa associação medicamentosa, sem que haja efeitos indesejáveis.

Vieira et al. (1998) obtiveram sucesso com a utilização de anfotericina B intralesional duas vezes por semana durante cinco semanas associada a excisão cirúrgica no tratamento de alternariose cutânea em paciente humano. Cinquenta miligramas de anfotericina B dissolvidos em 10 mL de água destilada foram diluídos com quatro volumes de procaína 0,5% obtendo-se uma concentração final de 1 mg/mL. Duas vezes por semana durante 5 semanas era infiltrado 1 mL da solução diretamente nas lesões. As injeções foram bem toleradas, apesar da dor moderada no sítio da aplicação. Após três meses de acompanhamento o paciente permanecia sem sinais da doença.

Zamos et al. (1996), utilizaram anfotericina B intralesional no tratamento de conidiobolomicose nasofaríngea em um equino, em combinação com iodeto de sódio. Foram utilizados 100 mg de anfotericina B intralesional (100mg/mL) associado a 3 mL de dimetilsulfóxido via endoscópica e tratamento sistêmico com solução de iodeto de sódio IV e iodeto de potássio oral. Dois meses após o completo desaparecimento das massas nasais, ocorreram sinais clínicos de recorrência e o proprietário optou pela eutanásia.

Em um caso de criptococose felina, Malik et al. (1996) obtiveram sucesso com a infiltração de anfotericina B na região nasal, associada ao tratamento com o mesmo fármaco via subcutânea e a agentes antifúngicos orais. O procedimento era realizado sob anestesia geral inalatória uma vez que o paciente não era cooperativo.

1.8.5. Tratamento cirúrgico

A ressecção cirúrgica é descrita em seres humanos e animais após falência do tratamento medicamentoso, embora o tratamento seja primariamente farmacológico (Koga et al., 2003; Hirano et al., 2006).

Foi relatado o caso de um gato com esporotricose que, após 19 meses de tratamento regular com itraconazol (20mg/kg/dia), apresentou uma nova lesão localizada na bolsa escrotal. Devido à persistência da lesão por cinco meses, foi realizada com sucesso a exérese total da bolsa escrotal e orquiectomia bilateral (Gremião et al., 2006).

1.8.6. Termoterapia local

Alguns autores sugerem a termoterapia local como tratamento alternativo para a esporotricose (Werner e 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 forma fixa da esporotricose.

2. Justificativa

A epidemia de esporotricose com transmissão zoonótica está em curso há mais de 12 anos no Rio de Janeiro, acometendo uma região com dificuldades socioeconômicas. No IPEC, aproximadamente 2.200 casos humanos, 3.244 em gatos e mais de 120 em cães foram diagnosticados até dezembro de 2009 (Barros et al., 2010). Nessa epidemia, o gato é o principal transmissor da doença, pois 91% dos casos humanos de esporotricose atendidos no IPEC foram transmitidos por gatos (Barros et al., 2004a).

Apesar da monoterapia com azólicos ser efetiva na esporotricose felina, alguns casos não apresentam resposta clínica satisfatória, sendo indicada a anfotericina B. Após consulta aos prontuários médicos dos gatos em acompanhamento clínico no LAPCLIN-DERMZOO, foi constatado que vários animais permaneciam um longo tempo em tratamento oral com azólicos apresentando persistência de lesões. Este fato implica no risco de transmissão da doença para seres humanos e outros gatos, dificulta a adesão do proprietário ao tratamento além do aumento do custo.

A anfotericina B é recomendada na forma disseminada da esporotricose, a qual geralmente é fatal em felinos. No entanto, são poucos os estudos sobre a utilização da anfotericina B na esporotricose felina. Devido ao grande número de efeitos adversos, dentre eles, nefrotoxicidade e dificuldade da técnica de administração pela via intravenosa, estudos recomendam a infiltração local de anfotericina B em casos de infecções fúngicas localizadas. Essa via de administração implica em altas concentrações teciduais, apresentando eficácia clínica e poucos efeitos sistêmicos. Entretanto, não foi encontrada na literatura a indicação deste tratamento na esporotricose felina.

A carência de estudos sobre a anfotericina B em gatos assim como a ausência de estudos sobre a utilização intralesional desse fármaco na esporotricose aponta para a necessidade de investigação desta opção na terapêutica farmacológica da doença. Portanto, o estudo dos gatos com esporotricose, provenientes da epizootia em curso no Estado do Rio de Janeiro, constitui uma oportunidade para ampliar o conhecimento sobre os aspectos terapêuticos da micose.

3. Objetivos

3. 1. Objetivo Geral

Avaliar a efetividade e segurança da anfotericina B intralesional associada ao itraconazol oral em gatos com esporotricose refratária, acompanhados no LAPCLIN-DERMZOO - IPEC/FIOCRUZ.

3. 2. Objetivos Específicos

- i. Descrever as características clínicas dos gatos submetidos à associação de anfotericina B intralesional ao itraconazol.
- ii. Descrever a frequência de cura clínica dos gatos submetidos à associação de anfotericina B intralesional ao itraconazol.
- iii. Descrever os efeitos adversos clínicos e laboratoriais do tratamento proposto.

4. Materiais e Métodos

4. 1. Desenho do Estudo

Foi realizado um estudo interventivo não controlado.

4. 2. Definição dos termos utilizados

- i. **Esporotricose refratária ao itraconazol:** ausência ou interrupção da melhora clínica das lesões nos gatos em uso de itraconazol (100 mg/dia) por um período mínimo de oito semanas.
- ii. **Melhora clínica:** regressão do tamanho e/ou do número de lesões (nos gatos com esporotricose refratária ao itraconazol e nos que foram submetidos ao tratamento com anfotericina B intralesional).
- iii. **Cura clínica:** cicatrização completa da lesão, avaliada um mês após o término do tratamento.
- iv. **Cicatrização da lesão:** epitelização com ausência de crostas, descamação, infiltração e eritema.
- v. **Abandono do tratamento:** não comparecimento na data indicada para aplicação do medicamento, havendo um período de tolerância de cinco dias.
- vi. **Recidiva:** reaparecimento da lesão no mesmo local do processo anterior no período que corresponde ao tempo de seguimento pós-terapêutico.
- vii. **Progressão das lesões existentes durante o tratamento:** desenvolvimento progressivo determinado pelo aumento do tamanho, da descamação, da infiltração e eritema da lesão com aparecimento ou exacerbação de crostas.

4. 3. Casuística

Foram incluídos gatos de ambos os sexos, com diagnóstico de esporotricose confirmado pelo isolamento de *S. schenkii* na data do primeiro atendimento, apresentando esporotricose refrataria ao itraconazol, acompanhados no LAPCLIN-DERMZOO/IPEC/Fiocruz no período de 2007 a 2009.

No período anterior a intervenção com anfotericina B, os gatos foram tratados com um ou dois antifúngicos orais (cetoconazol e itraconazol) isoladamente, sendo que todos estavam em uso de itraconazol 100 mg/gato/24h no momento da intervenção.

Os animais foram identificados a partir de consulta ao banco de dados do LAPCLIN-DERMZOO e selecionados através dos prontuários médicos. Posteriormente, o recrutamento foi realizado por contato telefônico com os responsáveis. Como na rotina do LAPCLIN-DERMZOO a marcação das consultas de retorno dos animais ocorre a cada oito semanas, foi escolhido o período de uma consulta consecutiva como sendo o momento para a realização da intervenção com a anfotericina B intralesional nos gatos apresentando esporotricose refratária ao itraconazol.

Os critérios de exclusão utilizados no estudo foram: animais com idade inferior a seis meses ou superior a doze anos, presença de lesões em mucosas visíveis a ectoscopia com iluminação, presença de sinais extracutâneos respiratórios (secreção naso-ocular, tosse, espirros), múltiplas lesões cutâneas (mais de cinco lesões), uso de terapia concomitante não permitida (agentes antineoplásicos, corticoesteróides, flucitosina, aminoglicosídeos, pentamidina, glicosídeos digitálicos, zidovudina - AZT e ciclosporina A) e gestantes (segundo informação do proprietário e/ou confirmação por exame clínico).

Os critérios utilizados para a interrupção definitiva do esquema terapêutico proposto foram: o paciente apresentar, durante o estudo, alguma das condições explicitadas nos critérios de exclusão, ausência de melhora clínica após a segunda administração da anfotericina B intralesional e surgimento de eventos adversos clínicos e laboratoriais classificados como grau quatro (Anexo A).

O critério utilizado para a interrupção temporária foi o surgimento de eventos adversos clínicos e laboratoriais classificados como grau três, até que retornassem a grau menor ou igual a dois (Anexo A).

4. 4. Critério de Cura

O critério adotado para definir cura foi a epitelização completa da lesão, ausência de crostas, descamação, infiltração e eritema. A avaliação da cura ocorreu um mês após o término do tratamento com anfotericina B intralesional.

4. 5. Cálculo Amostral

Foi utilizada uma amostra de conveniência, constituída por gatos que preencheram os critérios de inclusão e cujos proprietários concordaram em participar do procedimento.

4. 6. Procedimentos do Estudo

O estudo foi realizado no LAPCLIN-DERMZOO em colaboração com o Serviço de Farmácia (Sefarm/IPEC/Fiocruz), o Laboratório de Micologia (Lab-micol/IPEC/Fiocruz) e o Laboratório de Análises Clínicas (Labclin/IPEC/Fiocruz): sessão de hematologia (SHEM) e bioquímica (SBIOQ).

4. 6. 1. Visita de inclusão do paciente

Na visita de inclusão, os gatos foram submetidos a exame clínico, contenção química, coleta de sangue, coleta de amostras da lesão e da cavidade nasal, documentação fotográfica e administração de anfotericina B intralesional.

4. 6. 2. Exame Clínico

O exame clínico incluiu a pesagem do animal, avaliação do estado geral, inspeção de mucosas, pêlos e pele, observando-se o aspecto clínico da lesão, a localização e o número de lesões.

4. 6. 3. Contenção química

O animal foi submetido à sedação com cloridrato de quetamina 10% (10 a 15 mg/kg) associada a acepromazina 1% (0,1 mg/kg), via IM para a coleta de amostras biológicas e administração da anfotericina B intralesional.

4. 6. 4. Coleta de sangue

Após tricotomia e anti-sepsia local com álcool 70%, três a cinco mililitros de sangue total foram coletados da veia jugular externa com uma seringa de cinco mililitros descartável agulhada (0,70 x 25 mm) para a realização dos seguintes exames: hemograma (eritrograma, leucometria global e plaquetometria) e bioquímica sérica (uréia, creatinina, alanina aminotransferase-ALT e aspartato aminotransferase –AST e fosfatase alcalina).

4. 6. 5. Coleta de amostras da lesão

Foram coletados dois fragmentos do bordo da lesão utilizando-se “punch” de três milímetros, após anti-sepsia com álcool 70% e anestesia local infiltrativa com cloridrato de lidocaína 2% sem vaso-constritor. O primeiro fragmento foi conservado em salina estéril e encaminhado para o Laboratório de Micologia do IPEC para a realização da cultura micológica. O outro foi fixado em formol tamponado 4% e encaminhado para o Laboratório de Anatomia Patológica do IPEC para realização do exame histopatológico. Se houvesse mais de uma lesão, a coleta de fragmento seria realizada da mais recente.

4. 6. 6. Coleta de secreção nasal

A coleta foi realizada em uma das narinas por meio de “swab” estéril, a qual foi semeada nos meios agar Sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol e agar Mycosel, os quais foram encaminhados para o Laboratório de Micologia do IPEC para realização da cultura micológica.

4. 6. 7. Documentação Fotográfica

Os gatos foram fotografados com câmera digital em todas as visitas para registro e acompanhamento da evolução clínica.

4. 6. 8. Administração de anfotericina B intralesional

4. 6. 8. 1. Preparo da anfotericina B (Anforicin®; Cristália)

Foram adicionados 5 mL de água destilada e 5 mL de cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstritor em frasco contendo 50 mg de anfotericina B, obtendo-se uma concentração final de 5 mg/mL de anfotericina B e de 10 mg/mL de cloridrato de lidocaína. Após a utilização, o frasco era desprezado.

4. 6. 8. 2. Aplicação da anfotericina B

O volume necessário para infiltrar a lesão foi aspirado do frasco com uma seringa de 1 mL descartável agulhada 0,38 x 13 mm (27,5 G ½). A anfotericina B foi infiltrada diretamente em cada lesão até o intumescimento da mesma. A agulha era movimentada em diferentes direções para assegurar a infiltração de toda a lesão.

4. 6. 9. Seguimento terapêutico

Durante o seguimento terapêutico, os gatos foram submetidos a exame clínico, documentação fotográfica, contenção química para a coleta de sangue para análises hematológica e bioquímicas e administração de anfotericina B intralesional. Os dados obtidos e os procedimentos realizados durante as consultas foram anotados nos prontuários médicos dos animais.

A anfotericina B foi aplicada em intervalos de sete a dez dias, até a cicatrização completa da lesão. O volume administrado em cada animal variou conforme o tamanho da lesão.

A terapia antifúngica oral (itraconazol 100 mg/dia) que era realizada antes do início do estudo foi mantida durante o mesmo e por um mês após a cicatrização da lesão. A cura clínica foi avaliada um mês após o término do tratamento com anfotericina B intralesional, quando então foi suspenso o uso do itraconazol.

4. 6. 10. Seguimento Pós-terapêutico

Os gatos foram acompanhados clinicamente durante seis meses após a cura clínica, sendo as revisões ambulatoriais realizadas dois e quatro meses após a mesma. Durante o seguimento pós-terapêutico, os gatos foram submetidos a exame clínico e documentação fotográfica. Os dados obtidos durante as consultas foram anotados nos prontuários médicos dos animais.

4. 6. 11. Desfechos

- i. Cura clínica.
- ii. Abandono do tratamento.
- iii. Óbito.
- iv. Recidiva observada em até 6 meses.
- v. Progressão das lesões existentes durante o tratamento.
- vi. Surgimento de novas lesões durante o tratamento ou seguimento pós-terapêutico.
- vii. Estagnação do quadro clínico.
- viii. Interrupção definitiva do tratamento.

4. 6. 12. Considerações Éticas

Os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Fiocruz e protocolados com o número P-0500/08.

4. 6. 13. Plano de análise dos dados

Parâmetros clínicos e terapêuticos dos gatos com esporotricose submetidos ao uso da anfotericina B intralesional.

- i. sexo
- ii. idade
- iii. peso
- iv. estado geral
- v. esquemas terapêuticos previamente utilizados
- vi. tempo de ausência ou interrupção da melhora clínica das lesões nos gatos em uso de itraconazol
- vii. tempo de tratamento antifúngico oral antes da intervenção com anfotericina B intralesional
- viii. exames realizados antes da intervenção com anfotericina B intralesional (cultura micológica à partir do fragmento da lesão e secreção nasal, exame histopatológico)
- ix. exames hematológicos (hemograma e bioquímica)
- x. apresentação clínica (aspecto clínico, localização da lesão e número de lesões)
- xi. número de aplicações intralesionais realizadas
- xii. quantidade em mililitros de anfotericina B administrada em cada aplicação e volume total
- xiii. eventos adversos clínicos e laboratoriais
- xiv. desfecho

Todos os dados foram digitados em planilha do Microsoft Excel versão 2007. Após conferência foi realizada a análise de freqüência dos dados.

5. Artigo científico publicado e manuscrito aceito para publicação

O método e os resultados deste estudo foram apresentados na forma de um artigo científico e um manuscrito aceito em periódicos indexados.

5.1. Intralesional amphotericin B in a cat with refractory localised sporotrichosis

Artigo científico publicado no periódico *Journal of Feline Medicine and Surgery* (2009) v.11, 720-723.

Este artigo descreveu pela primeira vez o tratamento com anfotericina B intralesional e itraconazol oral em um gato com esporotricose refratária ao itraconazol, com persistência de uma lesão nodular na ponte nasal após nove meses de tratamento com o mesmo azólico. Este artigo respondeu em parte aos objetivos propostos no estudo.

5.2. Treatment of refractory feline sporotrichosis with a combination of intralesional amphotericin B and oral itraconazole.

Manuscrito aceito para publicação no periódico *Australian Veterinary Journal*.

O objetivo deste estudo foi descrever o tratamento com anfotericina B intralesional e itraconazol oral em 26 gatos com esporotricose refratária ao itraconazol, apresentando lesões cutâneas localizadas residuais. Este artigo respondeu aos objetivos propostos no estudo.

5.2.1. Registro de aceite no periódico *Australian Veterinary Journal*

18-Sep-2010

Dear Ms. Gremião:

Manuscript ID AVJ-A-10-182 entitled "Treatment of feline sporotrichosis refractory to itraconazole with a combination of intralesional amphotericin B" which you submitted to the Australian Veterinary Journal, has been reviewed.

The reviewers have recommended publication, but suggest some minor revisions to your manuscript. These are shown at the bottom of this email and in the attached. Please respond to their comments and revise your manuscript.

To revise your manuscript, log into <http://mc.manuscriptcentral.com/avj> and enter your Author Centre, where you will find your manuscript title listed under "Manuscripts with Decisions." Under "Actions," click on "Create a Revision." Your manuscript number has been appended to denote a revision.

You will not be able to make your revisions on the originally submitted version of the manuscript. Instead, revise your manuscript using a word processing program and save it on your computer. Please also highlight the changes to your manuscript within the document by using the track changes mode in MS Word or by using bold or coloured text.

You can upload it and submit your revised manuscript through your Author Centre.

When submitting your revised manuscript, please respond to the comments made by the reviewers in the space provided and use this space to document any changes you make to the original manuscript.

Thank you for submitting your manuscript to the Australian Veterinary Journal.

Sincerely,

Dr. Anne Jackson
Editor in Chief, Australian Veterinary Journal
avjoffice@ava.com.au
Sincerely,

7. Conclusões

Diante dos resultados obtidos neste estudo foi possível chegar às seguintes conclusões:

- A cura clínica foi observada na maioria dos animais que utilizaram o tratamento com anfotericina B intralesional associada ao itraconazol oral.
- Independente do fármaco e via de administração, a região nasal permanece como área de difícil manejo terapêutico.
- Independente do volume de anfotericina B administrado, os efeitos adversos clínicos relacionados a administração intralesional observados foram desconforto, formação de abscesso estéril e edema no local da aplicação.
- Não foram observados efeitos adversos laboratoriais relacionados à administração de anfotericina B intralesional.
- O aumento das enzimas ALT e AST em cinco animais foi atribuído a utilização de itraconazol oral.
- A administração de anfotericina B intralesional, apesar de ser um procedimento invasivo, representa uma opção terapêutica viável para pacientes que não respondem ao uso do itraconazol oral como medicamento isolada, com poucos efeitos adversos.

8. Referências

- ANVISA [homepage na internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta a Banco de Dados. Brasília, Distrito Federal, Brasil. [acesso em 19 mai 2011]. Disponível em: http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/consulta_produto/Medicamentos/frmConsultaMedicamentosPersistir.asp
- Barbee WC, Ewert A, Davidson EM. Animal model of human disease: sporotrichosis. *Am J Pathol* 1977;86(1):281-4.
- Barchiesi F, Schimizzi AN, Caselli F, Novelli A, Fallani S, Giannini D, et al. Interactions between Triazoles and Amphotericin B against *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 2435-41.
- Baroni FA, Campos SG, Direito GM. A cat sporotrichosis case. *Rev Bras Med Vet* 1998;20(1):25-27.
- Barros MBL, Schubach AO, Galhardo MC, Schubach TMP, Reis RS, Conceição MJ, et al. Sporotrichosis with widespread cutaneous lesions - a report of 24 cases related to transmission by domestic cats in Rio de Janeiro, Brazil. *Int J Dermatol* 2003;42(9):677-681.
- Barros MB, Schubach Ade O, do Valle AC, Gutierrez Galhardo MC, Conceicao-Silva F, Schubach TM, et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. *Clin Infect Dis* 2004a;38(4):529-35.
- Barros MBL, Schubach A, Francesconi-do-Valle AC, Gutierrez Galhardo MC, Conceição-Silva F, Schubach TMP, et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. *Clin Infect Dis* 2004b;38(4):529-535.
- Barros MB, Costa DL, Schubach TM, do Valle AC, Lorenzi NP, Teixeira JL, et al. Endemic of zoonotic sporotrichosis: profile of cases in children. *Pediatr Infect Dis J* 2008a;27(3):246-50.
- Barros MB, Schubach AO, Schubach TM, Wanke B, Lambert-Passos SR. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. *Epidemiol Infect* 2008b;136(9):1192-1196.
- Barros MBL, Coll JO, Gremiao IDF, Menezes RC, Wanke B, Schubach AO, Schubach TMP. Esporotricose – A evolução e os entraves de uma epidemia. In: XVI Congresso Brasileiro de Infectologia; 2009; Maceió: BJID; 2009. p.13.
- Barros MBL, Schubach TP, Coll JO et al. Esporotricose: A evolução e os desafios de uma epidemia. *Rev Panam Salud Publica*.2010;27(6):455-60.

Bennet JE, Dismukes WE, Duma RJ, Medoff G, Sande MA, et al. A comparison of amphotericin B alone and combined with flucytosine in the treatment of cryptococcal meningitis. *N Engl J Med* 1979; 301: 126-31.

Bennett JE. Antimicrobial Agents: antifungal agents. In: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL, editors. Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapy. 11th ed. New York: McGraw-Hill.; 2006. p. 1225-1242.

Burke M, Grauer G, Macy D. Successful treatment of cutaneolymphatic sporotrichosis in cat with ketaconazole and sodium iodine. *J Am Anim Hosp Assoc* 1982;19:542-547.

Bustamante B, Campos PE. Sporotrichosis: a forgotten disease in the drug research agenda. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004;2(1):85-94.

Bustamante B, Campos PE. Endemic sporotrichosis. *Curr Opin Infect Dis* 2001;14(2):145-9.

Catalán M, Montejo JC. Antifúngicos sistémicos. *Rev Iberoam Micol* 2006;23:39-49.

Cavalcanti MCH. Alterações anatomopatológicas na região nasal de gatos domésticos com esporotricose: lesões sem tratamento e lesões refratárias [Mestrado]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2010.

Clark RF. Chromoblastomycosis of the ear. Successful intralesional therapy with amphotericin B. *Cutis* 1979; 24:326-8.

Clinkenbeard KD. Diagnostic cytology: sporotrichosis. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1991;13(2):207-211.

Conti-Diaz IA. Epidemiology of sporotrichosis in Latin America. *Mycopathologia* 1989;108(2):113-6.

Corgozinho KB, Souza HJM, Neves A, Fusco MA, Belchior C. Um caso atípico de esporotricose felina. *Acta Sci Vet* 2006;34(2):167-170.

Costa EO, Diniz LS, Netto CF, Arruda C, Dagli ML. Epidemiological study of sporotrichosis and histoplasmosis in captive Latin American wild mammals, Sao Paulo, Brazil. *Mycopathologia* 1994;125(1):19-22.

Costello MJ, DeFeo ChP, Littman ML. Chromoblastomycosis treated with local infiltration of amphotericin B solution. *Arch Derm* 1959; 79:184-193.

Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH, DeNicola DB. Selected infectious agents. In: Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH, DeNicola DB, editors. Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. 3rd ed. Saint Louis: Mosby - Elsevier; 2008. p. 47-62.

Crothers SL, White SD, Ihrke PJ, Affolter VK. Sporotrichosis: a retrospective evaluation of 23 cases seen in northern California (1987-2007). *Vet Dermatol* 2009;20(4):249-59.

Cuenca-Estrella M. Combinations of antifungal agents in therapy – what values are they? *J Antimicrob Chemother* 2004, 54: 854-869.

Davies C, Troy GC. Deep mycotic infections in cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 1996;32(5):380-91.

De Beurmann L, Gougerot H. Les sporotrichoses. Paris: Librairie Félix Alcan; 1912.

De Beurmann L, Ramond. Abcès sous-cutanés multiples d'origine mycosique. *Annales de Dermatologie et de Syphiligraphie* 1903;4(4):678-685.

DeFeo CP; Harber LC. Chromoblastomycosis treated with local infiltration of amphotericin B solution. (Report of second case). *J Am Med Assoc* 1959; 171:1961-3.

Dixon DM, Salkin IF, Duncan RA, Hurd NJ, Haines JH, Kemna ME, 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;29(6):1106-13.

Donadel K, Reinoso Y, Oliveira J, Azulay R. Esporotricose: revisão. *Anais Brasileiros de Dermatologia* 1993;68(1):45-52.

Dunstan RW, Langham RF, Reimann KA, Wakenell PS. Feline sporotrichosis: a report of five cases with transmission to humans. *J Am Acad Dermatol* 1986a;15(1):37-45.

Dunstan RW, Reimann KA, Langham RF. Feline sporotrichosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1986b;189(8):880-3.

Fillipin FB, Souza LC. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. *Rev Bras de Cienc Farmac* 2006;42(2):167-194.

Findlay GH, Vismer HF. Studies in sporotrichosis: fungal morphogenesis and pathogenicity in differing environments. *Mycopathologia* 1986;96(2):115-22.

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;5(4):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;7(2):381-387.

Freitas DF, Valle AC, Almeida Paes R, Bastos FI, Galhardo MC. Zoonotic sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: a protracted epidemic yet to be curbed. *Clin Infect Dis* 2010;50(3):453.

Gold W, Stout HA, Pagano JF, Donovan R. Amphotericin A and B, antifungal antibiotics produced by a streptomycete. I. In vitro studies. *Antibiot Annu* 1955-1956: 579-586.

Greene CE. Antifungal chemotherapy. In: Greene CE, editor. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006. p. 542-50.

Gremião IDF, Pereira SA, Rodrigues AM, Figueiredo FB, Nascimento Jr A, Santos IB, et al. Tratamento cirúrgico associado à terapia antifúngica convencional na esporotricose felina. *Acta Sci Vet* 2006;34(2):221-223.

Gupta AK, Taborda PR, Sanzovo D. Alternate week and combination itraconazole and terbinafine therapy for chromoblastomycosis caused by *Fonsecaea pedrosi* in Brazil. *Med Mycol* 2002; 40: 529-534.

Heit MC, Riviere J. Antifungal and Antiviral Drugs. In: Adams R, editor. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 7th ed. Ames: Iowa State University Press; 1995. p. 855-885.

Hektoen L, Perkins CF. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*, a new pathogenic fungus. *J Exp Med* 1900;5:77-89.

Hirano M, Watanabe K, Murakami M, Kano R, Yanai T, Yamazoe K, et al. A case of feline sporotrichosis. *J Vet Med Sci* 2006;68(3):283-4.

Honse CO, Rodrigues AM, Gremião ID, Pereira SA, Schubach TM. Use of local hyperthermia to treat sporotrichosis in a cat. *Vet Rec* 2010;166(7):208-9.

Iwatsu T. Cutaneous alternariosis. *Arch Dermatol* 1988;124:1822-5.

Jaham C, Paradis M, Papich MG. Antifungal dermatologic agents: azoles and allylamines. *Small Anim/Exotics* 2000; 22(6): 548-558.

Jesus JR, Marques SMT. Esporotricose cutânea em um gato - relato de caso. *Clin Vet* 2006(65):72-74.

Kauffman CA. Sporotrichosis. *Clin Infect Dis* 1999;29(2):231-6; quiz 237.

Kauffman CA, Bustamante B, Chapman SW, Pappas PG. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2007;45(10):1255-65.

Khoo SH, Bond J, Denning W. Administering amphotericin B - a practical approach. *J Antimicrob Chemother* 1994 Feb; 33(2): 203-13.

Kirk PM, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. Dictionary of the fungi. 10th ed. Oxon, UK: CAB International; 2008.

Koga T, Matsuda T, Matsumoto T, Furue M. Therapeutic approaches to subcutaneous mycoses. *Am J Clin Dermatol* 2003;4(8):537-43.

Kwon-Chung K, Bennet J. Sporotrichosis. In: Kwon-Chung K, Bennet J, editors. *Medical Mycology*. 1st ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1992. p. 707-729.

Larsson CE, Goncalves MA, Araujo VC, Dagli ML, Correa B, Fava Neto C. Feline sporotrichosis: clinical and zoonotic aspects. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1989;31(5):351-358.

Larsson CE. Esporotricose. In: I Simpósio Brasileiro de Micologia sobre Micoses Animais; 2000 maio 4-5; Porto Alegre, Brasil. Porto Alegre: Gráfica UFRGS; 2000. p. 66-70.

Leão A, Silva J, Proença M. Sur um cas de sporotricose a *Sporotrichum Beurmanni*, observé pour la première fois chez um mulet a Rio de Janeiro. *C R Soc Biol*. 1934; 116;1157-1158.

Leme LR, Schubach TM, Santos IB, Figueiredo FB, Pereira SA, Reis RS, et al. Mycological evaluation of bronchoalveolar lavage in cats with respiratory signs from Rio de Janeiro, Brazil. *Mycoses* 2007;50(3):210-4.

Littman ML, Horowitz PL, Swadey JG. Coccidioimycosis and its treatment with amphotericin B. *Am J Med* 1958; 24 (4): 568-592.

Lopes-Bezerra LM, Schubach A, Costa RO. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. *An Acad Bras Cienc* 2006;78(2):293-308.

Lutz A, Splendore A. Sobre uma mycose observada em homens e ratos. *Revista Médica de São Paulo* 1907;21:433-450.

Lyman CA, Walsh TJ. Systemically administered antifungal agents. A review of their clinical pharmacology and therapeutic applications. *Drugs* 1992;44(1):9-35.

MacDonald E, Ewert A, Reitmeyer JC. Reappearance of *Sporothrix schenckii* lesions after administration of Solu-Medrol R to infected cats. *Sabouraudia* 1980;18(4):295-300.

Mackay BM, Menrath VH, Ridley MF, Kelly WR. Sporotrichosis in a cat. *Aust Vet Pract* 1986;16(1):3-5.

Madrid IM, Mattei A, Martins A, Nobre M, Meireles M. Feline Sporotrichosis in the Southern Region of Rio Grande Do Sul, Brazil: Clinical, Zoonotic and Therapeutic Aspects. *Zoonoses Public Health* 2009; 57:151-154.

Malik R, Craig AJ, Wigney DI, Martin P, Love DN. Combination chemotherapy of canine and feline cryptococcosis using subcutaneously administered amphotericin B. *Aust Vet J* 1996;73(4):124-8.

Malik R, Vogelnest L, O'Brien CR, White J, Hawke C, Wigney DI, et al. Infections and some other conditions affecting the skin and subcutis of the naso-ocular region of cats--clinical experience 1987-2003. *J Feline Med Surg* 2004;6(6):383-90.

Marques SA, Franco SR, de Camargo RM, Dias LD, Haddad Junior V, Fabris VE. Sporotrichosis of the domestic cat (*Felis catus*): human transmission. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1993;35(4):327-30.

Martinez R. Atualização no uso de agentes antifúngicos. *J Bras Pneumol* 2006;32(5):449-460.

Medleau L, Jacobs GJ, Marks MA. Itraconazole for the treatment of cryptococcosis in cats. *J Vet Intern Med* 1995;9(1):39-42.

Medleau L, Marks MA, Brown J, Borges WL. Clinical evaluation of a cryptococcal antigen latex agglutination test for diagnosis of cryptococcosis in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1990;196(9):1470-3.

Meinerz AR, Nascente Pda S, Schuch LF, Cleff MB, Santin R, Brum Cda S, et al. [In vitro susceptibility of isolates of *Sporothrix schenckii* to terbinafine and itraconazole]. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007;40(1):60-2.

Meinkoth JH, Cowell RL, Tyler RD, Morton RJ. Sample collection and preparation. In: Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH, DeNicola DB, editors. *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. 3rd ed. Saint Louis: Mosby - Elsevier; 2008. p. 1-18.

Nakamura Y, Sato H, Watanabe S, Takahashi H, Koide K, Hasegawa A. *Sporothrix schenckii* isolated from a cat in Japan. *Mycoses* 1996;39(3-4):125-8.

Nobre MO, Castro AP, Caetano D, Souza LL, Meireles MCA, Ferreiro L. Recurrence of sporotrichosis in cats with zoonotic involvement. *Rev Iberoam Micol* 2001;18:137-140.

Nobre MO, Nascente PS, Meireles MC, Ferreiro L. Antifungal drugs for small and large animals. *Cienc Rural* 2002;32(1):175-184.

Nusbaum BP, Gulbas N, Horwitz SN. Sporotrichosis acquired from a cat. *J Am Acad Dermatol* 1983;8(3):386-91.

Peaston A. Sporotrichosis. *J Vet Intern Med* 1993;7(1):44-5.

Pereira SA, Passos SRL, Silva JN, Gremião IDF, Figueiredo FB, Teixeira JL, et al. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. *Vet Rec* 2010;166:290-294.

Pereira SA, Schubach TM, Gremiao ID, Silva DT, Figueiredo FB, Assis NV, et al. Aspectos terapêuticos da esporotricose felina. *Acta Sci Vet* 2009;37(4):331-341.

Read SI, Sperling LC. Feline sporotrichosis. Transmission to man. *Arch Dermatol* 1982;118(6):429-31.

Restrepo A, Robledo J, Gomez I, Tabares AM, Gutierrez R. Itraconazole therapy in lymphangitic and cutaneous sporotrichosis. *Arch Dermatol* 1986;122(4):413-7.

Rippon J. Sporotrichosis. In: Rippon J, editor. *Medical Mycology - The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1988. p. 325-352.

Robertson D. Report of two cases of sporotrichosis of the face. *Australas J Dermatol* 1967;9(1):76-82.

Rodrigues AM. Anfotericina B subcutânea associada ao itraconazol no tratamento da esporotricose em gatos domésticos [Mestrado]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2009.

Rosser E, Dunstan R. Sporotrichosis. In: Greene CE, editor. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2006.

Schenck B. On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the *Sporotricha*. *Bull Johns Hopkins Hosp* 1898;240(93):286-290.

Schubach TM, Valle AC, Gutierrez-Galhardo MC, Monteiro PC, Reis RS, Zancoppe-Oliveira RM, et al. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of domestic cats (*Felis catus*). *Med Mycol* 2001;39(1):147-9.

Schubach TM, de Oliveira Schubach A, dos Reis RS, Cuzzi-Maya T, Blanco TC, Monteiro DF, et al. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Mycopathologia* 2002;153(2):83-6.

Schubach TM, Schubach A, Okamoto T, Pellon IV, Fialho-Monteiro PC, Reis RS, et al. Haematogenous spread of *Sporothrix schenckii* in cats with naturally acquired sporotrichosis. *J Small Anim Pract* 2003a;44(9):395-8.

Schubach TM, Schubach Ade O, Cuzzi-Maya T, Okamoto T, Reis RS, Monteiro PC, et al. Pathology of sporotrichosis in 10 cats in Rio de Janeiro. *Vet Rec* 2003b;152(6):172-5.

Schubach TM, Schubach A, Okamoto T, Barros MB, Figueiredo FB, Cuzzi T, et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998-2001). *J Am Vet Med Assoc* 2004;224(10):1623-9.

Schubach AO, Schubach TM, Barros MB. Epidemic cat-transmitted sporotrichosis. *N Engl J Med* 2005;353(11):1185-6.

Schubach A, Barros MB, Wanke B. Epidemic sporotrichosis. *Curr Opin Infect Dis* 2008;21(2):129-33.

Scott D, Miller W, Griffin C. Doenças fúngicas da pele. In: Scott D, Muller G, Griffin C, editors. *Muller & Kirk - Dermatologia de pequenos animais*. 5th ed. Rio de Janeiro: Interlivros Edições Ltda; 1996. p. 301-369.

Silva RR, Marques SG, Silva CMP. Cromoblastomicose tratada com itraconazol sistêmico associado a anfotericina B intralesional. *An. Bras. Dermatol* 1999;74:41-44.

Silva DT, Pereira SA, Gremião IDF, Chaves AR, Cavalcanti MCH, Silva JN, et al. Esporotricose conjuntival felina. *Acta Sci Vet* 2008;36(2):181-184.

Silva DA, Gremião IDF, Menezes RC, Pereira SA, Figueiredo FB, Ferreira RMC, Pacheco TMV. Micobacteriose cutânea atípica felina no município do Rio de Janeiro - relato de caso. *Acta Sci Vet* 2010; 38(3): 327-331.

Singer JI, Muncie JE. Sporotrichosis; etiologic considerations and report of additional cases from New York. *N Y State J Med* 1952;52(17:1):2147-53.

Sykes JE, Torres SM, Armstrong PJ, Lindeman CJ. Itraconazole for treatment of sporotrichosis in a dog residing on a Christmas tree farm. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2001;218(9):1440-3, 1421.

Taboada J. Systemic mycoses. In: Ettinger S, Feldman E, editors. *Textbook of veterinary internal medicine - Diseases of the dog and cat*. 5th ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 2000. p. 453-476.

Takahashi S, Maie O. Cutaneous chromomycosis: therapy with intra-lesional amphotericin B injections. *Hautarzt* 1981;32:567-570.

Vandeputte J, Watchel JL, Stiller ET. Amphotericin A and B, antifungal antibiotics produced by a Streptomyces. II. The isolation and properties of the crystalline amphotericins. *Antibiot Annu* 1956; 1955-1956: 587-591.

Vieira MR, Martins ML, Afonso A, Rego F, Cardoso J. Cutaneous alternariosis. *Rev. Iberoam Micol* 1998;15:97-99.

Welsh RD. Sporotrichosis. *J Am Vet Med Assoc* 2003;223(8):1123-6.

Werner AH, Werner BE. Sporotrichosis in man and animal. *Int J Dermatol* 1994;33(10):692-700.

Whiting D.A. Treatment of chromoblastomycosis with high local concentrations of amphotericin B. *British J Dermatol* 1967; 79:345-351.

Wu TC. Development of antifungal agents: perspective of the U.S. Food and drug Administration. *Clin Infect Dis* 1994; 19: 54-58.

Yoo BK; Miah AJ, Lee E, Han K. Reduced renal toxicity of nanoparticulate amphotericin B micelles prepared with partially benzylated poly-L-aspartic acid. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 1700-1705.

Zamos DT, Schumacher J, Loy JK. Nasopharyngeal conidiobolomycosis in a horse. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 208:100-1.

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

Tabela de graus de toxicidade laboratorial

Toxicidade Laboratorial	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Valores de Referência
Bioquímica					
Uréia(mg/dL)	33-99	100-200	201-402	>402	18-33***
Creatinina(mg/dL)	1,8-2,5	2,6-3,9	4,0-5,5	>5,5	0,8-1,8*
AST(U/L)	43-99	100-199	200-399	>399	26-43*
ALT(U/L)	83-166	167-334	335-670	>670	6-83*
FA(U/L)	93-186	187-374	375-750	>750	25-93*
Hematologia					
Hemácia (g/dL)	5,0-4,1	4,0-3,1	3,0-2,1	<2	5-10**
Hemoglobina(g/dL)	8,0-7,1	7,0-6,1	6,0-5,1	<5	8-15**
Hematócrito(%)	20-17	16-13	12-9	<9	20-45**

* *Kaneko et al.,1997* ** Jain,1993 *** *Meyer& Harvey,2004.*

Tabela de graus de toxicidade clínica

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

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido***TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO*****INSTITUIÇÃO: INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS /
IPEC – FIOCRUZ**

Coordenadora da Pesquisa: Isabella Dib Ferreira Gremião

Endereço: Avenida Brasil, 4365 – Manguinhos – Rio de Janeiro / RJ – CEP 21045-900
Telefone (0XX21) 3865-9536**Nome do Projeto: Tratamento da Esporotricose com Anfotericina B Intralesional****Nome do paciente:** _____ **Prontuário:** _____**Nome do responsável:** _____

Pelo presente documento, você está sendo convidado(a) a participar de uma investigação clínica que será realizada no Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (LAPCLIN-DERMZOO)-IPEC / FIOCRUZ, com o seguinte objetivo:

- Avaliar a resposta ao tratamento com o uso de anfotericina B via intralesional contra o fungo causador da esporotricose felina.

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

A participação de seu gato neste estudo é voluntária e você poderá recusar-se a permitir a participação dele no estudo ou retirá-lo a qualquer instante, bem como está garantido o atendimento de rotina no LAPCLIN-DERMZOO. O médico veterinário também poderá interromper a participação do seu gato a qualquer momento se julgar necessário.

Para que seu gato participe desse projeto, você deverá autorizar a realização de exames e posterior acompanhamento da doença. Serão realizadas fotografias em todas as consultas para o acompanhamento do tratamento. Os exames, procedimentos e medicações contra o fungo serão oferecidos de forma gratuita pela Instituição.

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

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

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

Procedimentos, exames e testes que poderão ser utilizados:

Antes do início do tratamento será realizado exame clínico geral e exame dermatológico. Seu animal será sedado em todas as consultas para administração de anfotericina B via intralesional e coleta de material biológico para acompanhamento do tratamento.

Após o início do tratamento, o animal deverá ser trazido ao LAPCLIN-DERMZOO uma vez por semana para administração de anfotericina B via intralesional. Em caso de cura, o gato deverá ser trazido após dois e quatro meses após a alta para reavaliação clínica.

Todos os animais terão direito a acompanhamento no LAPCLIN-DERMZOO após o término do estudo caso necessário.

Inconvenientes e riscos principais conhecidos atualmente:

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

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

No caso da biópsia, poderá ocorrer inflamação e infecção por bactérias. Caso isso ocorra, serão receitados os medicamentos apropriados.

A medicação via oral para combater o fungo, pode em alguns casos, ocasionar efeitos indesejáveis como: falta de apetite, vômito, diarreia e apatia (“tristeza”). A medicação aplicada diretamente na lesão pode, em alguns casos, ocasionar efeitos indesejáveis como: irritação local ou abscesso. Caso isso ocorra com seu animal, você deve entrar em contato com a equipe de médicos veterinários do LAPCLIN-DERMZOO.

Benefícios esperados:

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

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

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

Nome responsável pelo gato _____ **Data** _____

Nome médico veterinário _____ **Data** _____

Nome testemunha _____ **Data** _____

ANEXO C – Editorial publicado no periódico *Journal of Feline Medicine and Surgery* (2009), v. 11, 621-623.