

Diagnóstico de laboratorio de la esporotricosis felina en muestras recogidas en el estado de Rio de Janeiro, Brasil: limitaciones de la impronta citológica

Laboratory diagnosis of feline sporotrichosis in samples from Rio de Janeiro State, Brazil: imprint cytopathology limitations

Pâmella Antunes de Macêdo-Sales, Simone Rocha Leal da Silveira Souto, Carolina Airão Destefani, Ricardo Pereira de Lucena, Elisabeth Martins da Silva da Rocha, Andréa Regina de Souza Baptista

Universidade Federal Fluminense, Instituto Biomédico, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Laboratório de Micologia Médica e Molecular, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El estado de Río de Janeiro ha estado experimentando una epidemia de esporotricosis, considerada una enfermedad desatendida, de transmisión zoonótica por el felino doméstico (*Felis catus*). Aunque el aislamiento de los hongos del complejo de *Sporothrix schenckii* en cultivo micológico es el estándar oro en el diagnóstico, la citología por impronta de las lesiones se usa habitualmente en la práctica veterinaria. **OBJETIVO:** Evaluar el desempeño de la citología como un método de diagnóstico para la esporotricosis en gatos con sospecha de esa micosis provenientes de diferentes áreas geográficas del estado de Río de Janeiro, Brasil. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Después de la evaluación clínica, se recolectaron muestras del exudado con frotis y láminas por impronta de 196 gatos domésticos, con posterior siembra en Agar Sabouraud Dextrosa y Mycosel Agar y tinción de las láminas por Panóptico Rápido. **RESULTADOS:** De 196 animales, 102 (52.0%) fueron diagnosticados con esporotricosis. Para el 50,0% de la población, los resultados de cultivo y citología fueron discordantes ($p < 0,0001$; $\chi^2 = 32,960$), con el cultivo micológico más sensible (95,2%) que la citología (52,6%). Para los animales tratados con dosis de itraconazol ≥ 100 mg/día, se observó una reducción significativa en el rendimiento del diagnóstico citológico ($p = 0,0136$). Sin embargo, no se observó lo mismo en relación al tiempo de tratamiento u otras dosis ($p > 0.05$). **CONCLUSIÓN:** La dosis de itraconazol ≥ 100 mg/día, independiente de la duración del tratamiento, reduce la sensibilidad diagnóstica de la citología. Este resultado representa un alerta para el uso de esta herramienta como recurso único para la confirmación diagnóstica de la esporotricosis felina, en la rutina de la clínica veterinaria.

Palabras clave: Zoonosis; *Sporothrix*; Gatos; Técnicas y Procedimientos Diagnósticos.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Rio de Janeiro State is undergoing an epidemic of sporotrichosis, a neglected disease of zoonotic transmission by domestic cats (*Felis catus*). The isolation of the fungal of *Sporothrix schenckii* complex in mycological culture is the gold standard for sporotrichosis diagnosis; however, imprint cytopathology of lesions is routinely used in veterinary clinical practice. **OBJECTIVE:** To evaluate the performance of cytopathology as a diagnostic method for sporotrichosis in a population of cats with suspicion of this mycosis, from different geographic areas of Rio de Janeiro State, Brazil. **MATERIALS AND METHODS:** After clinical evaluation, exudate swab and slides by imprint of the lesion were collected from 196 domestic cats, with subsequent sowing in Sabouraud Dextrose and Mycosel Agar and slides staining by quick panoptic stain. **RESULTS:** Of the 196 animals, 102 (52.0%) were diagnosed with sporotrichosis. The results of culture and cytopathology were discordant ($p < 0.0001$; $\chi^2 = 32.960$), with mycological culture (95.2%) more sensitive than cytopathology (52.6%). For animals treated with itraconazole dosage ≥ 100 mg/day, a significant reduction in the diagnostic performance of cytopathology was observed ($p = 0.0136$). However, the same was not verified in relation to treatment time or other dosages ($p > 0.05$). **CONCLUSION:** Regardless of the duration of treatment, the dose of itraconazole ≥ 100 mg/day reduces the diagnostic sensitivity of cytopathology. This result is an alert for the use of this method as a unique resource for the diagnostic confirmation of feline sporotrichosis in veterinary clinical routine.

Keywords: Zoonoses; *Sporothrix*; Gatos; Técnicas e Procedimentos Diagnósticos.

Correspondencia / Correspondence:

Andréa Regina de Souza Baptista

Universidade Federal Fluminense, Instituto Biomédico, Departamento de Microbiologia e Parasitologia

Rua Prof. Hernani Pires de Melo, 101. Bairro: São Domingos. CEP: 24210-130 – Niterói, Rio de Janeiro. Brasil – Tel.: +55 (21) 2629-2439

E-mail: andrearegina@id.uff.br

INTRODUCCIÓN

La esporotricosis es una micosis que se produce después de la implantación traumática de hongos del clado patógeno del complejo *Sporothrix schenckii*. Recientemente, se propuso la existencia de, al menos, seis especies patógenas en el complejo, con un valor especial para *Sporothrix brasiliensis*, aislado exclusivamente en territorio brasileño y el principal agente del escenario epidémico en el estado de Río de Janeiro^{1,2}. Los hongos de este complejo son dimórficos, de distribución cosmopolita y a menudo, están aislados en climas cálidos y húmedos, a partir del suelo y de la materia orgánica vegetal, como la corteza y las espigas de los árboles, y material en descomposición. La vía clásica de transmisión está relacionada con traumas cutáneos con inoculación de materia orgánica^{3,4,5}.

Desde la década de 1990, la esporotricosis viene siendo descrita como una de las micosis de implantación traumática más importantes, presentando un cambio significativo en el perfil de transmisión, asumiendo estado de epidemia en Rio de Janeiro. Sin embargo, sigue sin notificarse en ese estado, figurando entre las enfermedades desatendidas. En este contexto, el felino doméstico (*Felis catus*) es el principal animal afectado por esta micosis, así como transmisor, desempeñando un papel central en la forma de transmisión zoonótica^{4,6}. Por lo tanto, los gatos domésticos con esporotricosis promueven la implantación traumática del hongo en el tejido subcutáneo humano y de otros animales y también presentan una manifestación clínica exuberante de esta micosis, en la mayoría de los casos cutánea diseminada. Dado el hábito felino de arañar troncos de árboles y otras superficies y enterrar sus heces, junto con el lamido de su cuerpo, las uñas y la cavidad nasal/nasofaringe pueden albergar las estructuras de este hongo, exponiendo al animal a la infección, así como a los otros huéspedes^{7,8}. Los animales enfermos, a su vez, aumentan la contaminación ambiental, y la preocupación es la eliminación inadecuada de los cadáveres, una práctica comúnmente observada⁹. Además, los *Felis catus* masculinos tienen como comportamiento las peleas por territorio y también por hembras, lo que hace que los animales en edad reproductiva estén aún más expuestos^{5,10,11}. Actualmente, esta dermatozoonosis ha sido informada en otros estados brasileños, como Minas Gerais, São Paulo, Paraná y Rio Grande do Sul^{2,11,12,13,14}, sin embargo, solamente en Rio de Janeiro su notificación es obligatoria.

Los procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de esporotricosis ya están bien establecidos, y el aislamiento en cultivo de hongos del complejo de *S. schenckii* es el estándar oro, que debe ir seguido de una identificación macro y micromorfológica y de la prueba de conversión térmica *in vitro*. Sin embargo, en la práctica clínica veterinaria, el diagnóstico citológico se usa de manera rutinaria, basado en la impronta de las lesiones de gatos domésticos en láminas de vidrio,

teñido por Panóptico Rápido (batería de tinciones con predominio de tonos rojos, pH ácido y azulado, pH básico, que tiñe las células en 1 min.), mostrando abundantes estructuras levaduriformes internalizadas o no, en los fagocitos^{5,7,15}. Aunque este segundo método representa una alternativa diagnóstica rápida, fácil de realizar y de bajo costo y, por lo tanto se emplea frecuentemente en la rutina de la clínica veterinaria, se considera presuntivo. El cultivo micológico, a su vez, tiene limitaciones relacionadas con la imposibilidad de procesar la muestra clínica en el local de atención ambulatoria, mayor costo y mayor tiempo para divulgar los resultados (aproximadamente 20 días)³.

Actualmente, la esporotricosis continúa afectando tanto a los hospederos humanos como a los felinos, con números crecientes, preocupantes en el territorio fluminense (estado de Rio de Janeiro) y otros estados de Brasil, como Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná y Rio Grande do Sul. En ese contexto, un punto importante es que, las estrategias futuras para la prevención y el control de la esporotricosis zoonótica dependen del rápido diagnóstico de la enfermedad en el felino doméstico, etapa que se considera crucial para un tratamiento eficaz. Dicha importancia se basa en la interrupción de la transmisión entre gatos enfermos y de estos a sus tutores y familiares. Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el desempeño de la citología como un método de diagnóstico para la esporotricosis en una población de gatos con sospecha de esa micosis, provenientes de diferentes áreas geográficas de Rio de Janeiro.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación es un estudio, aprobado por el Comité de Ética en el Uso de Animales de la Universidad Federal Fluminense (CEUA-UFF, protocolo número 208/2012 el 13 de diciembre de 2012). Las áreas geográficas abarcadas fueron las Zonas Oeste, Centro-Sur y Norte del municipio de Rio de Janeiro (tres clínicas veterinarias y un ambulatorio), la Baixada Fluminense (Región Metropolitana I, incluyendo a los municipios de Duque de Caxias, Nilópolis, São João de Meriti y Magé – una clínica veterinaria), la Gran Niterói (Región Metropolitana II, incluyendo a los municipios de Niterói, São Gonçalo e Itaboraí – cuatro clínicas veterinarias y un ambulatorio), la Región Serrana (Petrópolis, Teresópolis y Cachoeira de Macacu – una clínica veterinaria y un polo de cooperación) y la Baixada Litoránea (Arraial do Cabo, Araruama, Cabo Frio, Búzios, Maricá, São Pedro da Aldeia y Saquarema – dos clínicas veterinarias y dos polos de cooperación), como descrito por la Secretaría de Salud de Rio de Janeiro (SES/RJ).

Durante 12 meses (enero de 2013 a enero de 2014), diferentes ambulatorios, clínicas veterinarias y polos de cooperación recibieron, vía demanda pasiva o luego de busca activa, animales que fueron atendidos y sometidos a evaluación clínica por médicos veterinarios. De esa manera, un total de 196 felinos

domésticos con lesiones clínicas consideradas sugestivas de esporotricosis fue incluido. Las informaciones referentes a los datos clínico-epidemiológicos, tales como procedencia, castración, localización y características de las lesiones, comorbilidades, contacto con otros animales con lesiones de piel o no, con el suelo y plantas o no, entre otras, se registraron en un formulario estándar. A todos los tutores, cuidadores, médicos veterinarios, o los que se responsabilizaron por animales abandonados o que no tenían tutor/propietario, se les aclaró con relación a los objetivos y métodos del estudio antes de la recolección de muestras y firmaron un Término de Consentimiento Libre y Esclarecido. El criterio de inclusión fue la presencia de lesiones cutáneas sospechosas de esporotricosis, sin limitaciones con relación a la edad, al sexo, a la raza, al estado general de salud (enfermedades crónicas o infecciosas y estado nutricional), en tratamiento o no con antifúngicos, según declarado por los médicos veterinarios colaboradores.

Después de la evaluación clínica, se realizó una impronta citológica mediante una suave presión de la lámina de vidrio sobre la lesión sospechada, previamente limpiada con solución fisiológica estéril, en caso de que hubiera costras, enseguida se acondicionó en un tubo porta láminas para posterior tinción. Cada felino, debido al número de lesiones sospechosas, tuvo de una a tres láminas recolectadas. Las láminas con el material recolectado se fijaron en alcohol absoluto (99,5%) y se tiñeron con el método Panóptico Rápido (LABORCLIN, Pinhais, Paraná, Brasil), según el principio establecido por Romanowsky¹⁶. Después de la tinción, las láminas fueron secadas a temperatura ambiente y luego analizadas en microscopía óptica (400X) por, al menos, dos investigadores de forma independiente. Se consideraron positivas las con estructuras compatibles con las levaduras del complejo *S. schenckii*, internalizadas o no en los fagocitos, independientemente de su cantidad. Las láminas que no mostraban estas estructuras se consideraron negativas después de un escaneo completo de todos los campos de la lámina teñida.

Para realizar el cultivo micológico, se recogió el exudado de la lesión con la ayuda de un hisopo estéril, luego colocado en un tubo que contenía 1 mL de solución salina estéril (0,9%) y se envió inmediatamente al Laboratorio de Micología Médica y Molecular del Instituto Biomédico de la Universidad Federal Fluminense, en Niterói, para su procesamiento. Luego, el hisopo se usó para sembrar en dos tubos: uno que contiene Agar Sabouraud Dextrosa 2% (BD, New Jersey, EE. UU.) y el otro, Mycosel® (BD, New Jersey, EE. UU.). Las colonias sugerentes eran las membranosas, planas, plisadas y que rara vez presentaban un micelio aéreo gris en los bordes. Finalmente, se realizaron pruebas de dimorfismo térmico a través del crecimiento de la forma de levadura en agar *Brain Heart Infusion* (BD, New Jersey, EE. UU.) y del microcultivo en Agar Papa

Dextrosa (BD, New Jersey, USA) para confirmación diagnóstica.

Los datos obtenidos en los formularios estándar se guardaron en planilla en el software Excel® 2010 (Microsoft, Washington, EUA). Para evaluar el grado de discordancia entre los métodos de laboratorio empleados, se aplicó la prueba de McNemar. Los parámetros sensibilidad, especificidad, precisión, valor predictivo negativo, valor predictivo positivo y falso-negativo fueron determinados por el *screening test*, todos realizados por el software BioEstat v5.3 (Instituto Mamirauá, Amazonas, Brasil). Se investigó además, la posible influencia de otros factores en el desempeño diagnóstico de la citología y cultivo, tales como: aspecto de las lesiones cutáneas (presencia de costras, pus o sangre, eritema, úlceras, nódulos); señales clínicas (dificultad respiratoria, estornudos, secreción nasal, adelgazamiento, apatía, epistaxis, secreción ocular, dificultad de locomoción); y vigencia, dosis y duración del tratamiento antifúngico. Para todos los tests, el nivel de significación adoptado fue de $\alpha < 0,05$.

RESULTADOS

Entre los animales asistidos, 102 (52,0%) presentaron cultivo micológico positivo y/o impronta de citología sugestiva del complejo *S. schenckii* y se diagnosticaron como portadores de la enfermedad. En los animales con esa micosis, la mayoría (54; 52,9%) era de la Zona Norte da capital, seguida por 17 (16,7%) da Zona Oeste, 13 (12,7%) da Grande Niterói, siete (6,9%) de la Región Serrana, cinco (4,9%) de la Baixada Litorânea, cuatro (3,9%) de la Baixada Fluminense y dos (2,0%) de la Zona Centro-Sur de la capital.

La población felina afectada por esta zoonosis tenía una edad promedio de $3,75 \pm 3,1$ años y estaba compuesta, mayoritariamente, por machos (62; 60,8%), no castrados (57; 55,9%), sin raza definida (90; 88,2%). Los aspectos más frecuentes de las lesiones fueron: ulceración (76; 74,5%), presencia de sangre (70; 68,6%) y costras (60; 58,8%). La región más afectada por las lesiones fue la cabeza (57; 55,9%), seguida de los miembros pélvicos (27; 26,5%) y torácicos (26; 25,5%). Más de un tercio (42; 41,2%) estaba en tratamiento oral con itraconazol en diferentes dosis (25 mg a 100 mg) y duración (de un día a cinco años) en el momento de la recolección de los especímenes clínicos. No hubo diferencia estadística entre los parámetros descritos anteriormente en comparación con los animales de diferentes áreas geográficas de Río de Janeiro.

Cuando se compararon los resultados de la citología de impronta con los del cultivo micológico, hubo resultados discordantes: de los 56 con citología positiva, 51 (91,1%) tuvieron un cultivo positivo y cinco (8,9%) negativo; de los 140 con citología negativa, 46 (32,9%) tuvieron un cultivo positivo y 94 (67,1%) negativo (Tabla 1).

Tabla 1 – Combinaciones entre los resultados verificados por los métodos de citología de la lesión y cultivo micológico del exudado de la lesión en los 196 felinos con sospecha de esporotricosis, en el estado de Rio de Janeiro, Brasil, 2013–2014

Métodos	Cultivo positivo		Cultivo negativo		Total	
	N	%	N	%	N	%
Citología positiva	51	91,1	5	8,9	56	28,6
Citología negativa	46	32,9	94	67,1	140	71,4
Total	97	49,5	99	50,5	196	100,0

Utilizando el cultivo micológico del exudado de la lesión como estándar oro, se realizaron los cálculos de los parámetros de sensibilidad, especificidad, precisión, falso-negativo y de los valores predictivos positivo y negativo frente a la citología por impronta (Tabla 2). El test de mayor sensibilidad y especificidad fue el cultivo micológico con (95,2% y 100,0%, respectivamente); mientras que la citología por impronta alcanzó sensibilidad de 52,6% y especificidad de 95,0%. El cultivo micológico también fue más preciso que la citología por impronta y el porcentaje de falso-negativo del primer test fue muy inferior al segundo (4,8% e 47,4%). La impronta citológica tuvo valor predictivo positivo menor (91,1%) que el cultivo (100,0%), mientras que los valores predictivos negativos fueron diferentes: cultivo – 94,7%; citología – 67,1%. Finalmente, con el objetivo de evaluar el grado de discordancia entre los tests, se calculó el p-valor para los pares discordantes entre el diagnóstico por cultivo micológico y por impronta citológica a partir de las lesiones. El cultivo y la citología produjeron respuestas discordantes ($p < 0,0001$; $\chi^2 = 32,96078$) (Tabla 2).

Tabla 2 – Porcentual de los parámetros analíticos y el test de McNemar para cultivo y para citología en los diagnósticos de esporotricosis en felinos del estado de Rio de Janeiro, Brasil, 2013–2014

Parámetros	Impronta citológica (%)
Sensibilidad	52,6
Especificidad	95,0
Precisión	74,0
Falso-negativo	47,4
VPP	91,1
VPN	67,1
Test de McNemar Índice de Kappa	$p < 0,0001$; $\chi^2 = 31,3725$ 0,48

VPP: Valor predictivo positivo; VPN: Valor predictivo negativo.

Se investigó la posible influencia de los aspectos clínicos y de la gravedad de las lesiones cutáneas, bien como la presencia de señales coadyuvantes en el desempeño diagnóstico de la citología y del cultivo, y, entre esas variables, ninguna interfirió en el desempeño de ambos métodos ($p > 0,05$). Por otro lado, el tratamiento previo con antifúngicos mostró interferencia en la citología, visto que, para los animales tratados con itraconazol en dosis iguales o superiores a 100 mg/día, se observó una significativa reducción en la sensibilidad diagnóstica de la citología ($p = 0,0136$). Sin embargo, lo mismo no se verificó en relación al tiempo de tratamiento ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

Clínicamente, las manifestaciones de la esporotricosis felina pueden ser confundidas con otras enfermedades infecto-parasitarias tales como la criptocosis, la leishmaniasis y otras afecciones cutáneas, como atopia e, incluso, neoplasias, enfatizando la necesidad del diagnóstico de laboratorio. A pesar de que las técnicas diagnósticas para la esporotricosis felina están bien establecidas, poco se sabe sobre la posible interferencia de factores externos al método, como características de la lesión, incidencia de comorbilidades o aún, la vigencia de tratamiento en el desempeño de la citología por impronta y del cultivo micológico^{3,11}.

En el presente estudio, la edad promedio de los felinos con esporotricosis fue de 3.71 años y la mayoría de ellos era de machos no castrados de raza no definida. De hecho, a esta edad, los gatos han alcanzado la madurez sexual cuando se produce el celo, lo que aumenta las posibilidades de pelea por las hembras y la consiguiente exposición a animales portadores de la enfermedad. Estos hallazgos corroboran informes anteriores que describen que los gatos machos y no castrados tienen mayor riesgo de exposición al agente de la esporotricosis y, en consecuencia, se enferman más^{7,11,14,17}.

Los aspectos clínicos macroscópicos de las lesiones, observados con mayor frecuencia en los animales con esporotricosis, fueron cepas, ulceraciones y la presencia de pus y sangre. En felinos con esta micosis, estudiados por Madrid et al.¹¹, las lesiones presentaban nódulos fistulados que drenaban un exudado parduzco y

eventualmente formaban costras. En un estudio previo realizado por el mismo grupo de autores, las lesiones de los felinos con esporotricosis diseminada mostraron predominantemente nódulos con úlceras y costras¹⁴. En cuanto a la ubicación de las lesiones, los animales con esporotricosis se vieron afectados con mayor frecuencia en la cabeza, seguida de los miembros torácicos y pélvicos. Otros autores también informaron el predominio de lesiones esporotricóticas en la cabeza y las extremidades de los gatos domésticos^{11,14,17}. La ubicación de las lesiones puede reflejar las áreas que están más expuestas durante las peleas o incluso que entran en contacto con el suelo o las plantas^{5,11}.

Con respecto a las poblaciones de felinos domésticos de las diferentes áreas geográficas estudiadas, no se observaron diferencias clínico-epidemiológicas, lo que apunta a la existencia de un curso uniforme de esta epidemia en el Estado. Sin embargo, esta diferencia se esperaba debido a las posibles características divergentes entre los nichos ambientales y la distribución del hongo en función de la urbanización, el estado socioeconómico, los aspectos climáticos y demográficos entre las regiones estudiadas. Se observó que los factores investigados aquí no influyeron en la infección por *Sporothrix* y el consiguiente desarrollo de lesiones cutáneas en gatos domésticos asistidos.

El cultivo micológico es el estándar de oro para el diagnóstico de esporotricosis, porque solo a través de él es posible el aislamiento del agente causador de la enfermedad³. Alrededor de la mitad de los animales tratados tenía un cultivo micológico positivo (49,5%), mientras que Schubach et al.^{5,7} obtuvieron porcentajes más altos (100,0%). Tal diferencia se puede atribuir al hecho de que el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Evandro Chagas (INI) de la Fundación Oswaldo Cruz (Fiocruz) representa un centro de referencia para la esporotricosis felina en la capital de Rio de Janeiro, donde se atiende a animales diagnosticados previamente por médicos veterinarios. De hecho, la presente investigación se realizó a través de la inclusión de animales por profesionales en diferentes lugares de atención en el Estado, y por lo tanto, los datos obtenidos aquí reflejan la rutina clínica de los consultorios y clínicas veterinarias. De este modo, el diseño del presente estudio se considera representativo de la rutina diagnóstica de la esporotricosis felina en áreas endémicas. Como era de esperar, el cultivo micológico tuvo alta sensibilidad, corroborando los hallazgos previamente publicados^{7,5,11,14}.

Contrariando el sentido común, de que el uso de antifúngicos sería decisivo para el fracaso del aislamiento del agente en cultivo, se observó en el presente estudio que, para el porcentaje significativo de animales sometidos a un tratamiento específico, era posible recuperar hongos del complejo *S. schenckii* de las lesiones. Algunos factores pueden haber influido en este resultado, como la presentación del medicamento, la dosis prescrita, la posible resistencia de la cepa al antifúngico recomendado e incluso los tratamientos interrumpidos debido a fugas, al rechazo del animal a la

administración oral del medicamento y a la desistencia del propietario debido a dificultades en la administración o costo del tratamiento. Dichos factores podrían disminuir la eficacia del tratamiento, facilitando la proliferación de hongos y su posterior recuperación^{18,19}.

Como se esperaba, la sensibilidad de la impronta citológica detectada fue menor (52.6%) que la encontrada en el cultivo micológico (95.2%); pero esta sensibilidad, por citología, fue mayor (81,6%)¹⁵ para un grupo de gatos asistidos por el centro de referencia de Rio de Janeiro para el diagnóstico de esporotricosis (INI/Fiocruz), validando la técnica como un recurso seguro, rápido y confiable. bajo costo para el diagnóstico presuntivo de esporotricosis en gatos domésticos^{15,20}. Como se indicó para el cultivo micológico, los datos obtenidos aquí provienen de diferentes centros de cuidado de animales. La preparación de la lámina durante la atención clínica y su análisis de laboratorio son cruciales para el éxito de la técnica. Cuando el material está en exceso (espero), escaso o incluso poco teñido, el resultado puede verse comprometido. Además, la baja carga fúngica en las lesiones requiere una búsqueda cuidadosa en todos los campos de la lámina, lo que, a su vez, requiere entrenamiento y experiencia previa para identificar de manera confiable las levaduras compatibles con *Sporothrix*¹⁵.

Curiosamente, al contrario de lo que se observó en el cultivo micológico, el tratamiento antifúngico previo interfiere con la positividad de la citología por impronta. En este estudio, fue posible verificar que la dosis diaria ≥ 100 mg/día de itraconazol reduce la fiabilidad de la citología negativa. Este hallazgo es preocupante, ya que en áreas endémicas no es raro instituir el tratamiento antes de la confirmación de laboratorio de la esporotricosis felina^{18,19,21}. Actualmente, el acceso gratuito a las redes sociales y a los sitios de búsqueda, que contienen información sobre el tratamiento y el manejo del animal, no siempre confiables, favorece el tratamiento empírico incluso antes de consultar al veterinario.

Es importante destacar que, de acuerdo con la Nota Técnica nº 3/2011 SVS-SESJ-FIOCRUZ de 2011²², que convirtió la esporotricosis felina y humana en una enfermedad de notificación obligatoria en el estado de Rio de Janeiro, el diagnóstico de laboratorio se basa únicamente en el aislamiento del *Sporothrix*. Debido al alto número de casos refractarios al tratamiento^{19,23,24}, es esencial realizar el cultivo para investigar el agente etiológico para definir la especie y, especialmente, su perfil de susceptibilidad a los antifúngicos.

CONCLUSIÓN

Los hallazgos obtenidos en este estudio muestra que el diagnóstico por cultivo micológico y por citología por impronta producen resultados discordantes. Luego, hay diferencias entre los tests que deben ser consideradas para la conclusión del diagnóstico en la rutina clínica veterinaria. La dosis de itraconazol ≥ 100 mg/día, independiente de la duración del tratamiento, reduce la sensibilidad de la citología por impronta para el

diagnóstico de la esporotricosis felina. Por lo tanto, tal método debe ser considerado presuntivo y no excluye el aislamiento fúngico en cultivo, el estándar oro. El resultado representa un alerta para el uso de esa herramienta como recurso único para la confirmación diagnóstica de la esporotricosis felina en la rutina clínica veterinaria. Por fin, aunque en minoría, resultados falso-negativos por el método presuntivo posponen medidas preventivas y terapéuticas de esa importante zoonosis, con impacto deletéreo en el control de la epidemia.

APOYO FINANCIERO

Becas de iniciación científica del Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Universidad Federal Fluminense (PIBIC-CNPq-UFF). Becas de demanda social de la Coordinación de Perfeccionamiento de Personal de Nivel Superior (CAPES), nivel maestría.

Proyecto Joven Científico de Nuestro Estado (E-26/103.198/2011) y beca de iniciación científica de la Fundación de Amparo a la Investigación del Estado de Rio de Janeiro.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declararon que no hubo conflictos de interés.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Todos los autores contribuyeron con la ideación del estudio, el análisis y la interpretación de los datos y con la redacción del manuscrito, aprobando la versión final publicada. Se declaran responsables por el contenido integral del artículo, garantizando su precisión e integridad.



REFERENCIAS

- 1 Marimon R, Cano J, Gené J, Sutton DA, Kawasaki M, Guarro J. *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical interest. *J Clin Microbiol*. 2007 Oct;45(10): 3198-206.
- 2 Rodrigues AM, Teixeira MM, Hoog GS, Schubach TMP, Pereira SA, Fernandes GF, et al. Phylogenetic analysis reveals a high prevalence of *Sporothrix brasiliensis* in feline sporotrichosis outbreaks. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 Jun;7(6):e2281.
- 3 Barros MBL, Paes RA, Schubach AO. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. *Clin Microbiol Rev*. 2011 Oct;24(4):633-54.
- 4 Barros MBL, Schubach AO, Schubach TMP, Wanke B, Lambert-Passos SR. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. *Epidemiol Infect*. 2008 Sep;136(9):1192-6.
- 5 Schubach TMP, Schubach AO, Reis RS, Cuzzi-Maya T, Blanco TCM, Monteiro DF, et al. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Mycopathologia*. 2002 Feb;153(2):83-6.
- 6 Silva MBT, Costa MMM, Torres CCS, Galhardo MCG, Valle ACF, Magalhães MAFM, et al. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saude Publica*. 2012 out;28(10): 1867-80.
- 7 Schubach TMP, Schubach A, Okamoto T, Barros MBL, Figueiredo FB, Cuzzi T, et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). *J Am Vet Med Assoc*. 2004 May;224(10):1623-9.
- 8 Souza LL, Nascente PS, Nobre MO, Meinerz ARM, Meireles MCA. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of healthy cats. *Braz J Microbiol*. 2006 Jul-Sep;37(3):372-4.
- 9 Barros MBL, Schubach TP, Coll JO, Gremião ID, Wanke B, Schubach A. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. *Rev Panam Salud Publica*. 2010;27(6):455-60.
- 10 Barros MBL, Schubach TMP, Galhardo MCG, Schubach AO, Monteiro PCF, Reis RS, et al. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001 Aug;96(6):777-9.
- 11 Madrid IM, Mattei AS, Fernandes CG, Nobre MO, Meireles MCA. Epidemiological findings and laboratory evaluation of sporotrichosis: a description of 103 cases in cats and dogs in southern Brazil. *Mycopathologia*. 2012 Apr;173(4):265-73.
- 12 Sanchotene KO, Madrid IM, Klafke GB, Bergamashi M, Terra PPD, Rodrigues AM, et al. *Sporothrix brasiliensis* outbreaks and the rapid emergence of feline sporotrichosis. *Mycoses*. 2015 Nov;58(11):652-8.
- 13 Mattei AS, Madrid IM, Santin R, Silva FV, Carapeto LP, Meireles MCA. *Sporothrix schenckii* in a hospital and home environment in the city of Pelotas/RS – Brazil. *An Acad Bras Cienc*. 2011 Dec;83(4): 1359-62.
- 14 Madrid IM, Mattei A, Martins A, Nobre M, Meireles M. Feline sporotrichosis in the southern region of Rio Grande do Sul, Brazil: clinical, zoonotic and therapeutic aspects. *Zoonoses Public Health*. 2010 Mar;57(2):151-4.
- 15 Silva JN, Passos SRL, Menezes RC, Gremião IDF, Schubach TMP, Oliveira JC, et al. Diagnostic accuracy assessment of cytopathological examination of feline sporotrichosis. *Med Mycol*. 2015 Nov;53(8):880-4.
- 16 Gurr E. Synthetic dyes in biology, medicine and chemistry. New York: Academic Press; 1971.

- 17 Leme LRP, Schubach TMP, 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 May;50(3):210-4.
- 18 Pereira SA, Schubach TMP, Gremião IDF, Silva DT, Figueiredo FB, Assis NV, et al. Aspectos terapêuticos da esporotricose felina. *Acta Sci Vet*. 2009;37(4): 331-21.
- 19 Chaves AR, Campos MP, Barros MBL, Carmo CN, Gremião IDF, Pereira SA, et al. Treatment abandonment in feline sporotrichosis – study of 147 cases. *Zoonoses Public Health*. 2013 Mar;60(2): 149-53.
- 20 Pereira SA, Menezes RC, Gremião IDF, Silva JN, Honse CO, Figueiredo FB, et al. Sensitivity of cytopathological examination in the diagnosis of feline sporotrichosis. *J Feline Med Surg*. 2011 Apr;13(4):220-3.
- 21 Gremião IDF, Pereira SA, Rodrigues AM, Figueiredo FB, Nascimento Júnior A, Santos IB, et al. Tratamento cirúrgico associado à terapia antifúngica convencional na esporotricose felina. *Acta Sci Vet*. 2006;34(2):221-3.
- 22 Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro. Subsecretaria de Vigilância em Saúde. Superintendência de Vigilância Epidemiológica e Ambiental. Coordenação de Vigilância Epidemiológica. Divisão de Transmissíveis e Imunopreveníveis. Nota técnica nº 3/2011-GDTVZ/DTI/CVE/SVEA/SVS-SES RJ e IPEC/FIOCRUZ, de 5 de outubro de 2011: orientações sobre vigilância da esporotricose no Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Secretaria de Estado de Saúde, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas/Fiocruz; 2011.
- 23 Gremião IDF, Schubach TMP, Pereira SA, Rodrigues AM, Chaves AR, Barros MBL. Intralesional amphotericin B in a cat with refractory localised sporotrichosis. *J Feline Med Surg*. 2009 Aug;11(8):720-3.
- 24 Gremião IDF, Miranda LHM, Reis EG, Rodrigues AM, Pereira SA. Zoonotic epidemic of sporotrichosis: cat to human transmission. *PLoS Pathog*. 2017 Jan;13(1):e1006077.

Recibido en / Received: 13/3/2017
Aceptado en / Accepted: 11/12/2017

Se refiere al doi: 10.5123/S2176-62232018000200002, publicado originalmente en portugués.

Traducido por: Lota Moncada

Cómo citar este artículo / How to cite this article:

Macêdo-Sales PA, Souto SRLS, Destefani CA, Lucena RP, Rocha EMS, Baptista ARS. Diagnóstico de laboratorio de la esporotricosis felina en muestras recogidas en el estado de Rio de Janeiro, Brasil: limitaciones de la impronta citológica *Rev Pan-Amaz Saude*. 2018 abr-jun;9(2):1-7. Doi: <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232018000200002>