
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**Esporotricose felina: distribuição das lesões e caracterização
anatomopatológica utilizando diversos métodos de diagnóstico**

Ágna Ferreira Santos

**Belo Horizonte - MG
Escola de Veterinária-UFMG
2020**

ÁGNA FERREIRA SANTOS

**Esporotricose felina: distribuição das lesões e caracterização
anatomopatológica em gatos utilizando diversos métodos de diagnóstico**

**Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como
requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciência Animal.**

**Área de Concentração: Patologia Animal
Orientadora: Profa. Dra. Roselene Ecco**

**Belo Horizonte - MG
Escola de Veterinária-UFMG
2020**

S237e Santos, Ágna Ferreira. 1991–
Esporotricose felina: distribuição das lesões e caracterização natomopatológica em gatos utilizando diversos métodos de diagnóstico/ Ágna Ferreira Santos- 2020.
53f:il.

Orientador: Roselene Ecco

Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais

Área de concentração: Patologia Animal.

Bibliografia: f: 19 – 24; f: 50 – 53.

1. Felinos – Doenças - Teses - 2. Saúde Pública - Teses – 3. Zoonoses - Teses – I. Ecco, Roselene – II. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária – III. Título.

CDD – 636.089 4

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes – CRB2569

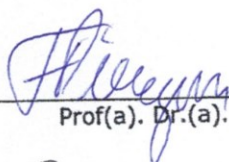
UFMG UNIVERSIDADE FEDERAL
DE MINAS GERAIS**FOLHA DE APROVAÇÃO****ÁGNA FERREIRA SANTOS**

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Patologia Animal.

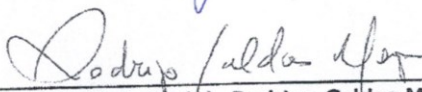
Aprovado(a) em 04 de fevereiro de 2019, pela banca constituída pelos membros:



Prof(a). Dr.(a). Roselene Ecco
Presidente - Orientador(a)



Prof(a). Dr.(a). Felipe Pierezan



Prof(a). Dr.(a). Rodrigo Caldas Menezes

Universidade Federal de Minas Gerais
Escola de Veterinária
Av. Antônio Carlos, 6627 -
Caixa Postal 567 - CEP 30123-970
Belo Horizonte - Minas Gerais
Telefone: (31) 3409-2057/2059(fax)
www.vet.ufmg.br
E-mail: cap@vet.ufmg.br



À todos os gatos que possibilitaram a existência desse trabalho e novos conhecimentos. Suas vidas não foram em vão e darei meu melhor para isso.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Reginaldo e Piedade, que sempre apoiaram incondicionalmente todas as minhas escolhas e me deram todo suporte emocional e financeiro para que meus sonhos fossem possíveis, mesmo que vocês tivessem que se sacrificar para isso. Obrigada pelo amor incondicional, por toda ajuda e por todo apoio. Vocês são meus maiores exemplos e inspiração, e verdadeiros anjos na minha vida. Eu não poderia ter pais melhores.

Ao meu irmão, Apolo, pelo apoio sempre que precisei e por fazer dessa caminhada mais leve com seu bom humor, conversas e séries maratonadas.

Agradeço a todo o setor de Patologia Veterinária da UFMG. Professores, técnicos, pós-graduandos e residentes por toda a ajuda e ensinamentos. Vocês foram essenciais para meu crescimento profissional. Em especial ao técnico Luís por toda a ajuda nas necropsias e com os recebimentos dos animais e por sempre tentar me animar. As técnicas Leimar, Natália e Valéria, que sempre me ajudaram com dicas histológicas valiosas, pelos conselhos e por me apoiarem e me darem forças para sempre ir em frente.

Aos queridos alunos de iniciação científica Nikollye, Camila, Fabrício e Humberto, por toda dedicação e ajuda nesse trabalho, mas também pelo apoio emocional e pela amizade que criamos. Vocês têm um futuro lindo pela frente, e esse trabalho não seria tão rico sem vocês.

Aos queridos amigos do “Ecco Team”. Em especial Letícia por toda a orientação, ajuda, conselhos e empurrões para eu nunca deixar de acreditar em mim e me ajudar e me inspirar a ser uma pessoa e profissional melhor. Ao Marcelo e Carolina, por sempre me estenderem uma mão amiga para me acolher, um braço para me ajudar no que eu precisava e por espantar todas as pombas da veterinária por mim. Ao Matheus, Willian e Philipe, por todo o apoio, ajuda, por ouvirem meus desabafos e por me arrancarem risadas nos dias difíceis. Vocês tornaram minha caminhada alegre e mais fácil.

Aos amigos da patologia, em especial Ayisa e Daniel, por toda a ajuda, pelo apoio e amizade. À Beatriz, Clarissa, Carlos, Mariana, Lucas e Samantha, por toda a ajuda sem eu nem precisar pedir, pela amizade, conselhos, abraços na hora certa, apoio, pelos momentos de descontração e me ajudando nos altos e baixos a manter a força e o bom humor. Vocês são maravilhosos!

Aos amigos de infância, da UFMG e familiares. Em especial Anderson, Deiviane, Deividiane, Clemente, Fabrício, Filipe, Grazielle, Juliana, Larissa, Leonardo, Luis Felli, Manolo, Míriam, Nathalia, Patrick e Sasha, que sempre me incentivaram a ir atrás dos meus sonhos e entenderam minhas ausências para poder me dedicar e me ajudaram em todos os momentos difíceis por todos esses anos. Obrigada por tornarem minha vida mais alegre e colorida, vocês são meus irmãos de vida!

À “Comissão de esporotricose do CRMV-MG”, professora Danielle, professora Maria Isabel, à mestre Lívian, a todos os veterinários do CCZ-BH e aos residentes de saúde pública da UFMG, muito obrigada pela ajuda com a amostragem e por toda disponibilidade em ajudar e contribuir ao meu projeto. O trabalho de vocês é inspirador.

À minha orientadora Roselene Ecco, pela oportunidade e confiança concedidas desde a graduação, como aluna de iniciação científica e de mestrado. Muito obrigada por me fazer crescer profissionalmente e por todos os ensinamentos e paciência durante esses quatro anos, me fazendo chegar mais perto do sonho de ser patologista.

À Escola de Veterinária da UFMG, por permitir a concretização do meu sonho desde a graduação. À banca examinadora, pelas sugestões e críticas para a excelência desse trabalho. A FAPEMIG e CAPES pelo apoio financeiro do projeto, ao CNPq pela concessão da bolsa.

À todos os animais de estimação que passaram na minha vida, em especial a Fadinha, Julie, Brisa, Manhoso e Bitelo, Yuri, Totoro, Branquinha e Trovão. É por vocês e por todos os animais que eu luto e sempre irei lutar para ser uma profissional sempre melhor, e para combater qualquer negligência animal.

MUITO OBRIGADA!

“A vida passa e abre caminhos que
não são percorridos em vão”

Frida Kahlo

SUMÁRIO

RESUMO	12
ABSTRACT	13
CAPÍTULO 1: Revisão de literatura	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

CAPÍTULO 2: Esporotricose felina: distribuição das lesões e caracterização anatomopatológica em 110 gatos utilizando diversos métodos de diagnóstico.....

1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3. RESULTADOS	30
4. DISCUSSÃO	45
5. CONCLUSÃO	49
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50

Lista de abreviaturas

IHQ	Imuno-histoquímica
SNC	Sistema nervoso central
PCR	Reação em cadeia da polimerase
LAMICO	Laboratório de micologia e micotoxinas da UFMG
CCZ - BH	Centro de Controle de Zoonoses de Belo Horizonte
PAS	Ácido periódico- <i>Schiff</i>
GMS	Impregnação pela prata de <i>Grocott-Gomori</i>
HE	Hematoxilina e Eosina

Lista de Figuras

Figura 1: Regiões anatômicas que foram mapeadas para obter a distribuição das lesões.....	22
Figura 2: Achados anatomopatológicos dos órgãos linfoides de gatos com esporotricose.....	24
Figura 3: Achados anatomopatológicos dos órgãos de gatos com esporotricose.....	27
Figura 4: Distribuição das lesões cutâneas dos 110 gatos incluindo a porcentagem de acometimento, Belo Horizonte, 2019.....	28
Figura 5: Distribuição e tipos de lesões cutâneas em gatos com esporotricose.....	29
Figura 6: Tipos de exsudatos na esporotricose cutânea em gatos.....	30
Figura 7: Histopatologia e imuno-histoquímica da pele e corneto nasal de gatos com esporotricose.....	31
Figura 8: Positividade para <i>Sporothrix</i> spp. das lesões cutâneas dos gatos na coloração por hematoxilina e eosina.....	32
Figura 9: Lesões histológicas na conjuntiva palpebral e pulmão de gatos com esporotricose.....	33
Figura 10: Lesões histológicas por <i>Sporothrix</i> spp. na língua, meninge e testículo de gatos com esporotricose.....	39

Lista de Tabelas

Tabela 1: Definição da classificação histopatológica e quantificação das leveduras nas lesões cutâneas.....23

Tabela 2: Positividade para *Sporothrix* spp. nas lesões cutâneas nos diferentes testes realizados.....36

Tabela 3: Achados histopatológicas e imuno-histoquímicos nos diferentes tipos de infiltrado inflamatório da pele dos gatos com esporotricose.....37

RESUMO

A esporotricose é uma infecção fúngica crônica profunda da pele causada pelo gênero *Sporothrix* spp. Pode se apresentar na forma cutânea, linfo-cutânea e extracutânea, embora esta última ainda sem muitos estudos e esclarecimentos. O objetivo desse trabalho foi caracterizar por histopatologia e imuno-histoquímica, as lesões cutâneas e extracutâneas da esporotricose e comparar os diferentes métodos diagnósticos em gatos da região metropolitana de Belo Horizonte. No período de março de 2018 a março de 2019, foram avaliados 110 gatos resgatados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Belo Horizonte, com suspeita clínica de esporotricose felina, confirmada ou não por cultivo e isolamento. Os gatos com impossibilidade de serem tratados foram eutanasiados. Após a eutanásia, os animais foram avaliados por exames macroscópico, citopatológico, histopatológico e imuno-histoquímico. Testes moleculares para a confirmação da espécie de *Sporothrix* também foram realizados. Dos 110 animais, 74 foram positivos para *Sporothrix* spp. por coloração de rotina, 30 por imuno-histoquímica e 2 somente por cultura fúngica e PCR. A citopatologia e a histopatologia foram eficientes no diagnóstico da doença, embora em gatos com lesões contendo carga fúngica baixa, a imuno-histoquímica foi necessária para a confirmação do agente. Os achados histopatológicos mais comuns na pele foram: dermatite piogranulomatosa, dermatite histiocitária e plasmocitária e dermatite granulomatosa, com intensidades variadas na quantidade de leveduras nas lesões. Os achados extracutâneos foram rinite/rinosinusite histiocitária e plasmocitária ou piogranulomatosa, linfadenite histiocitária sinusoidal, linfadenite granulomatosa, pneumonia histioplasmocitária e neutrofílica, conjuntivite histiolinfoplasmocitária, glossite granulomatosa, periorquite granulomatosa e necrosante e meningite histiocitária, todos com presença de leveduras em diferentes intensidades. Em quatro dos 110 gatos com lesões cutâneas ulcerativas, foram diagnosticados três casos com carcinoma de células escamosas e um caso de nocardiose cutânea, sendo considerados importantes para o diagnóstico diferencial.

Palavras-chave: *Sporothrix*, gato, histopatologia, citopatologia, imuno-histoquímica, PCR, dermatite, linfadenite, lesão extracutânea, órgãos viscerais

ABSTRACT

Sporotrichosis is a chronic deep fungal infection of the skin caused by the genus *Sporothrix* spp. The disease has cutaneous, lympho-cutaneous and extracutaneous forms, although the last one has not been studied and clarified yet. The aim of this study was to characterize by histopathology and immunohistochemistry exams, the cutaneous and extracutaneous lesions of sporotrichosis in cats from metropolitan region of Belo Horizonte. In the period from March 2018 to March 2019, 110 cats rescued by the Zoonoses Control Center of Belo Horizonte, were evaluated with clinical suspicion of feline sporotrichosis, confirmed or not by culture and isolation. Cats unable to be treated were euthanized. After euthanasia, the animals were evaluated by macroscopic, cytopathological, histopathological and immunohistochemical exams. Molecular tests to confirm the *Sporothrix* species were also performed. Out of 110 animals, 74 were positive for *Sporothrix* spp. on routine hematoxylin and eosin staining, 30 by immunohistochemistry and two only by fungal culture and PCR. Cytopathology and histopathology exams were efficient in the diagnosis of the disease, although in cats with lesions containing low fungal load, immunohistochemistry was needed to confirm the agent. The most common histopathological findings on the skin were pyogranulomatous dermatitis, histiocytic and plasmacytic dermatitis and granulomatous dermatitis, with different amount of yeasts in the lesions. The extracutaneous findings were histiocytic and plasmacytic or pyogranulomatous rhinitis/rhinosinusitis, sinusoidal histiocytic lymphadenitis, granulomatous lymphadenitis, histioplasmacytic and neutrophilic pneumonia, histiolymphoplasmacytic conjunctivitis, granulomatous glossitis, granulomatous and necrotic periorchitis and histiocytic meningitis, all with many different numbers of yeasts. In four of the 110 cats with ulcerative skin lesions, other diseases were diagnosed; three cases of squamous cell carcinoma and one case of cutaneous nocardiosis, being considered important for the differential diagnosis.

Key-words: *Sporothrix*, cat, histopathology, cytopathology, imuno-histochemistry, PCR, dermatitis, lymphadenitis, extracutaneous lesion, visceral organs.

Capítulo 1.

Revisão de literatura

Esporotricose é uma infecção crônica da pele e do tecido subcutâneo causada por um fungo dimórfico, denominado *Sporothrix* spp. (Gross et al., 2009). É distribuído amplamente na natureza, em solo rico em matéria orgânica em decomposição, folhas secas, madeira, espinhos de plantas e musgos (Lopes-Bezerra et al., 2006; Antunes et al., 2009). Essa doença tem sido descrita em diversas espécies como gatos, cães, equinos, camundongos, primatas, golfinhos, camelos, marsupiais (Coiacetto et al., 2019) e seres humanos (Irizarry- Rovira et al., 2000). A transmissão zoonótica pode ocorrer e geralmente é causada pelo gato (Rodrigues et al., 2016).

O gênero *Sporothrix* pertence à família Ophiostomataceae, ordem Ophiostomatales, subclasse Euascomycetes e divisão Ascomycota (Oliveira et al., 2011). Quando infecta hospedeiros ou em cultivo fúngico utilizando ágar-infusão cérebro-coração (do inglês *brain heart infusion*, BHI) a 37 °C, tem crescimento leveduriforme, assumindo formato arredondando ou ovalado semelhante a um “charuto”. Quando cultivado em ágar Sabouraud em temperatura ambiente, tem crescimento micelial, com formações de hifas delgadas, septadas, ramificadas, com aglomerados de conídeos, em forma de margarida ou crisântemo (Larsson, 2011).

Estudos moleculares e fenotípicos demonstraram que o gênero *Sporothrix* é composto pelas seguintes espécies patogênicas: *S. brasiliensis*, *S. chilensis*, *S. globosa*, *S. luriei*, *S. mexicana*, *S. pallida* e *S. schenckii* (Marimon et al., 2006; Zhang et al., 2015). A grande maioria dos casos no Brasil são por transmissão zoonótica e estão relacionados a espécie *S. brasiliensis* (Rodrigues et al., 2014). *Sporothrix* spp. foi descrito pela primeira vez em 1898 nos Estados Unidos (Schenck, 1898), e no Brasil em 1907 por Lutz e Splendore. Estes autores descreveram os primeiros casos em humanos e em ratos. O primeiro caso no mundo, de infecção humana transmitida por gato, ocorreu na cidade de São Paulo, Brasil e documentada por Lacaz et al. (2002).

A partir de 1990, a doença se estabeleceu no Rio de Janeiro e em São Paulo por surtos zoonóticos (epidêmicos), e vêm se expandindo para outros estados, com casos animais e/ou humanos relatados na maior parte da região Sul, Sudeste (Da Rosa et al., 2005; Colodel et al., 2009; Gutierrez-Galhardo et al., 2015), principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais e Espírito Santo (Gremião et al., 2020). Contudo, tem sido descrita, também, em alguns estados do Norte e Nordeste do país (Marques-Melo et al., 2014; Araujo e Leal, 2016).

Ainda não há estudos sobre a situação epidemiológica do estado de Minas Gerais, mas há relatos da esporotricose felina no estado (Rodrigues et al., 2013; Lecca et al., 2020). Em

relação a Belo Horizonte, um estudo diagnosticou 118 gatos positivos entre 2016 e 2018, no qual 95% destes animais pertenciam a região do Barreiro, sendo a espécie circulante o *Sporothrix brasiliensis* (Lecca et al., 2020). A resposta imunológica às infecções fúngicas varia de acordo com o fungo (Traynor e Huffnagle, 2001), mas a imunidade celular é a principal para a maioria deles, no qual a imunidade humoral exerce pequeno papel (Blanco e Garcia, 2008). A imunidade celular é composta por neutrófilos, monócitos, macrófagos, células dendríticas, células *natural killer*, linfócitos T e citocinas. O tipo inflamatório geralmente é constituído por reações granulomatosas (Blanco e Garcia, 2008). O tipo de resposta celular induzido é determinante na susceptibilidade à infecção, na qual a imunidade celular Th1 tem grande importância na eliminação de infecções fúngicas por produzirem predominantemente citocinas como IFN- γ e ativação de fagócitos (Traynor e Huffnagle, 2001). A imunidade humoral, exerce um pequeno papel na prevenção da aderência, neutralização de toxinas e opsonização (Polonelli et al., 2000). Em relação ao *Sporothrix* spp, a imunidade celular também tem papel crucial na esporotricose felina (Miranda et al., 2016), no qual a resposta Th1 acontece em gatos saudáveis com granulomas únicos bem formados, baixa carga fúngica e relacionados ao aumento de linfócitos TCD4+. Em animais com escore corporal baixo e lesões disseminadas com alta carga fúngica estão relacionados ao aumento de linfócitos T CD8+ (Kienzle et al., 2005).

A transmissão do agente geralmente ocorre por inoculação traumática na pele, devido à necessidade de lesão prévia na epiderme para que se estabeleça a infecção (Gremião et al., 2017). A infecção no gato ocorre pelo contato com o solo ou material orgânico contaminado, principalmente devido ao hábito dos felinos de escavar e encobrir as fezes com terra, e de arranhar vegetais secos ou troncos de árvores. Além disso, pode ocorrer também pela mordedura e arranhadura de outros gatos em brigas, fazendo com que os machos não castrados tenham maior susceptibilidade de serem mais acometidos (Larsson, 2011; Schubach, 2013). O isolamento do fungo em solos contaminados por fezes demonstrou que essa fonte de contaminação pode ser importante para a manutenção do agente no ambiente e consequente infecção de seres humanos e outros animais (Montenegro et al., 2014).

A esporotricose felina tem um amplo espectro de manifestações clínicas como, forma cutânea localizada ou disseminada, linfocutânea e extracutânea ou sistêmica (Lacaz 2002; Ginn et al., 2007; Téllez et al., 2014). Os sinais de lesões extracutâneas geralmente se manifestam no sistema respiratório (Schubach et al., 2004). A disseminação para órgãos como fígado, pulmão, baço, linfonodos e ossos pode ser determinante para as mortes (Marques et al., 1993).

A infecção inicia-se com a inoculação do fungo na pele lesionada, podendo penetrar até a derme e tecido subcutâneo, onde ocorre a transição micélio-levedura. O período de incubação é de aproximadamente 13 dias (Antunes et al., 2009). A levedura pode permanecer na derme e subcutâneo ou disseminar-se por drenagem linfática, ou sistemicamente pelos vasos sanguíneos (Schubach et al., 2012).

O método para o diagnóstico definitivo do agente da esporotricose felina é o isolamento do agente em cultura. A identificação da espécie pode ser realizada pela morfologia e

fenotipagem do isolado (Gremião et al., 2015), ou por testes moleculares (Rodrigues et al., 2015). Exames citopatológicos e histopatológicos também são muito úteis para o diagnóstico da doença em gatos devido à alta sensibilidade destes testes ao fungo devido à alta carga fúngica que esses animais apresentam em suas lesões (Gremião et al., 2015). O exame citopatológico é realizado pressionando-se uma lâmina de vidro levemente sobre a lesão ulcerada, e em seguida é feita a coloração de Romanowsky. *Sporothrix* spp. são caracterizados morfológicamente por leveduras ovaladas a arredondadas em formato de “charuto”, medindo aproximadamente 5-9 µm e podem estar no citoplasma de macrófagos ou livres, formando ou não brotamentos (Silva et al., 2015). Essa técnica possui baixo custo, permite rapidez no resultado e, portanto, possibilita intervenção terapêutica e de controle mais rapidamente. Além disso, a sensibilidade da citopatologia usando a coloração de Romanowsky pode chegar a 87% (Silva et al., 2018).

No exame histopatológico, há infiltrado predominantemente por macrófagos, macrófagos epitelioides, neutrófilos, células gigantes multinucleadas e por vezes, linfócitos e plasmócitos, caracterizando-se assim como uma inflamação piogranulomatosa, que envolve derme e subcutâneo. Na epiderme pode haver células acantolíticas ou ulcerações e consequentemente associação com restos celulares. A fibrose e a neovascularização na derme também são achados comuns (Ginn et al., 2007). No citoplasma de macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas, ou também livres no interstício, encontram-se numerosas estruturas leveduriformes únicas ou com brotamento, redondas, ovais ou alongadas medindo 5 a 9 µm de comprimento por 2 a 5 µm de largura (Ginn et al., 2007). As leveduras possuem um centro basofílico e um halo claro. Embora sejam visualizadas com a coloração de rotina (Hematoxilina e Eosina), colorações especiais como o ácido periódico-Schiff (PAS) e metenamina de prata de Grocott-Gomori (GMS) permitem melhor identificação do fungo (Silva et al., 2013; Mauldin e Peters-Kennedy, 2016; Castro et al., 2017).

Outro método diagnóstico que pode ser utilizado é a imuno-histoquímica, que possui sensibilidade de aproximadamente 88% em gatos (Silva et al., 2018); entretanto, ainda não há disponibilidade de anticorpos comerciais para este fim, ficando a técnica restrita a alguns centros diagnósticos que o produzem (Bazzi et al., 2016).

No diagnóstico diferencial da esporotricose devem ser incluídas outras doenças que causam dermatite como: criptococose, leishmaniose, síndrome leproide felina (micobacteriose atípica felina), nocardiose cutânea (Guy, 1920), histoplasmose e candidíase (Antunes, 2009; Guarner e Brant, 2011). Além disso, tem-se as neoplasias como o carcinoma de células escamosas, que em gatos ocorre principalmente no plano nasal e na pele das orelhas (Schubach et al., 2012).

A criptococose é considerado o principal diagnóstico diferencial em gatos (Gross et al. 2009). É causada pelo *Cryptococcus neoformans* (Pappalardo e Melhen, 2003), e diferencia-se do *Sporothrix* spp. pela presença de cápsula polissacarídica espessa e de melanina na sua parede fúngica, podendo ter diâmetro total variando de 4,17 a 34,16 µm (Galiza et al., 2014). No exame histopatológico a lesão geralmente é piogranulomatosa e com leveduras, que possuem um

núcleo basofílico e cápsula espessa que geralmente não se cora pela coloração de rotina (Malik et al., 2006; Faria e Xavier, 2009; Guarner e Brandt, 2011). Além disso, *Cryptococcus* spp. são fortemente positivos pela coloração Fontana-Masson (Kwong-Chung et al., 1981; Galiza et al., 2014), pela coloração Alcian Blue (Guarner e Brandt, 2011) e Mucicarmina (Gazzoni et al., 2009).

A infecção por *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* se difere por apresentar infiltrado inflamatório predominantemente histiocitário. As leveduras formam agregados no interior de macrófagos, e são arredondadas e pequenas, medindo de 2 a 4 µm (Guarner e Brandt, 2011). Na coloração por HE a parede celular fúngica é visualizada como um halo claro na periferia das leveduras, assemelhando-se a uma cápsula e núcleo é basofílico (Antunes et al., 2009).

A leishmaniose felina é causada pela *Leishmania chagasi* (Brasil, 2014). Os sinais clínicos mais comuns são lesões ulceradas e nodulares nas orelhas, plano nasal e periocular devido a maior exposição dessas regiões ao vetor devido a menor cobertura de pelos (Bonfante-Garrido et al., 1996; Simões-Mattos et al., 2005; Vides et al., 2011). Esta diferencia-se da esporotricose na histopatologia, por apresentar numerosas formas amastigotas arredondadas a ovais, de 1 a 2 µm de largura e por serem negativos nas colorações por PAS e GMS (Gross et al., 2009).

A síndrome lepróide felina é causada por micobactérias atípicas. As características histológicas das lesões cutâneas são similares, mas a coloração especial auxilia no diagnóstico diferencial. As micobactérias na forma de bacilos são englobadas e podem ser visualizadas pela coloração de *Ziehl-Neelsen* no citoplasma de macrófagos, macrófagos epitelioides e células gigantes multinucleadas (Gross et al., 2009).

A neoplasia que deve ser considerada no diagnóstico diferencial da esporotricose é o carcinoma de células escamosas, devido à localização e aspecto da lesão macroscópica (Schubach et al., 2012), que ocorre principalmente no plano nasal, pálpebras e no pavilhão auricular de gatos de pele e pelos brancos (Gross et al., 2009). Neste caso, a diferenciação também é realizada por histopatologia, na qual se identifica proliferação neoplásica das células escamosas da epiderme (Ginn et al., 2007).

A candidíase também é considerada para o diagnóstico diferencial da esporotricose pois, pode acometer a epiderme, além de mucosas. Morfologicamente, é caracterizada por leveduras menores (3 a 5 µm) denominados blastoconídeos, e pseudo-hifas, que são estruturas alongadas e septadas, em forma de cadeia (Antunes et al., 2009; Guarner e Brandt, 2011).

A nocardiose cutânea é causada por bactérias aeróbicas, gram-positivas, parcialmente álcool-ácido resistentes, ramificadas e filamentosas (Beaman e Beaman, 1994), sendo as espécies *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis*, *Nocardia farcinica* e *Nocardia nova* as mais comuns e patogênicas em gatos (Greene et al., 1993; Scott et al., 1996). O principal sinal clínico são lesões cutâneas ou subcutâneas que formam abscessos crônicos, podendo ser

fistulados ou ulcerados (Kirpensteijn e Fingland, 1992; Medleau et al., 2003; Ribeiro et al., 2008). Os achados histopatológicos são caracterizados por dermatite e paniculite piogranulomatosa, associada a necrose, fibrose, infiltrado de plasmócitos, macrófagos e comumente, reação de *Splendore-Hoeppli*. A coloração de *Good Pasture*, (Gram histológico), na qual a *Nocardia* spp. é gram positiva, auxilia no diagnóstico diferencial histopatológico (Ginn et al., 2007).

A prevenção e o controle da esporotricose felina podem ser realizados por meio do isolamento e tratamento dos animais doentes, da guarda responsável e da castração dos animais. A eutanásia é preconizada em casos sem possibilidade terapêutica e com destino correto dos cadáveres, evitando a disseminação no ambiente (Barros et al., 2010).

O abandono dos gatos doentes acontece na tentativa de prevenir a ocorrência de outros casos nas residências onde os proprietários já contraíram a doença, ou no desconhecimento ou na impossibilidade da realização do tratamento. Em alguns casos, ocorre o extermínio desses gatos e o descarte inadequado dos mesmos em terrenos baldios ou em lixo comum, favorecendo a disseminação e permanência do fungo no ambiente (Barros et al., 2010). A melhor destinação dos cadáveres com esporotricose é a cremação/incineração. Uma outra opção para eliminação do fungo é a autoclavação, embora haja algumas desvantagens como a capacidade limitada das autoclaves. Os cadáveres devem ser transportados até o local de incineração de modo que não ofereçam risco aos manipuladores dos cadáveres, os quais devem ser armazenados em sacos plásticos de lixo infectante, devidamente identificados e dentro de caixas hermeticamente fechadas (Andrade et al., 2002).

A castração tem importância para a saúde pública e animal no combate da doença, pois diminui os comportamentos de riscos inerentes desses animais, que contribuem para a disseminação do fungo, como brigas e disputas territoriais e por fêmeas, grandes deslocamentos espaciais dos gatos e acasalamentos (Almeida, 2015).

O objetivo desse estudo é caracterizar as lesões cutâneas e extracutâneas da esporotricose felina em gatos da região metropolitana de Belo Horizonte por meio de exames macroscópico, citopatológico, histopatológico, imuno-histoquímico e por testes moleculares, além de comparar os diferentes métodos diagnósticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L.G.F., ALMEIDA, V. G. F. Uma revisão interdisciplinar da esporotricose. *Revista Eletrônica Estácio Saúde*, v.4, n.2, p.180-192, 2015.
- ANDRADE, A., PINTO, S.C., OLIVEIRA, R.S. Animais de Laboratório: criação e experimentação [online]. Rio de Janeiro: *Editora FIOCRUZ*, 388p, 2002.
- ANTUNES, T.A.; NOBRE, M.O.; FARIA, R.O.; MEINERZ, A.R.M.; MARTINS, A.A.; CLEFF, M.B.; FERNANDES, C.G.; MEIRELES, M.C.A. Esporotricose cutânea experimental: avaliação in vivo do itraconazol e terbinafina. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v.42, n.6, p.706-710, 2009.
- ARAUJO, A.K.L.; LEAL, C.A.S. Esporotricose felina no município de Bezerros, Agreste Pernambucano: Relato de caso. *Pubvet*, v.10, n.11, p.816–820, 2016.
- BARROS, M.B.L., SCHUBACH, T.P., COLL, J.O., I.D. GREMIÃO; WANKE, B., SCHUBACH, A. Esporotricose: a evolução e os desafios de uma epidemia. *Ver. Panam. Salud Publica*, v.27, n.6, p.455–60, 2010.
- BAZZI, T.; MELO, S.M.P.; FIGHERA, R.A.; KOMMERS, G.D. Características clínico-epidemiológicas e histoquímicas da esporotricose felina. *Pesq. Vet. Bras.*, v.36, n.4, p.303-311, 2016.
- CASTRO, N.B.; ROLIM, V.M.; NASCIMENTO, L.C.; SILVEIRA, A.F.V.; ARGENTA, F.F.; FERREIRO, L.; DRIEMEIER, D.; SONNE, L. Doenças micóticas em gatos no Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v.37, n.11, p. 1313-1321. 2017.
- BEAMAN, B. L.; BEAMAN, L. Nocardia species: host-parasite relationships. *Clin. Microbiol. Ver.*, 7(2): 213-264, 1994.
- BONFANTE-GARRIDO, R.; VALDIVIA, O.; TORREALBA, J.; GARCÍA, M. T.; GARÓFALO, M. M.; URDANETA, I.; URDANETA, R.; ALVARADO, J.; CUPOLLILLO, E.; MOMEN, H.; GRIMALDI JÚNIOR, G. Cutaneous leishmaniasis in cats (*Felis domesticus*) caused by *Leishmania (Leishmania) venezuelensis*. *Revista Científica FCV- LUZ, Maracabo Venezuela*, v. 6, n. 3, p. 187-190, 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral. *Brasília: Ministério da Saúde*, p.120, 2014.
- COIACETTO, F. et al. Disseminated sporotrichosis in a Bilby (*Macrotis lagotis*). *J. Comp. Pathol.*, v. 170, p. 74-77, 2019.
- COLODEL, M.M.; JARK, P.C.; RAMOS, C.J.R.; MARTINS, V.M.V.; SCHNEIDER, A.F.; PILATI, C. Esporotricose cutânea felina no Estado de Santa Catarina: relato de casos. *Vet. em Foco*, v.7, p. 18–21, 2009.

DA ROSA, A.C.M.; SCROFERNEKER, M.L.; VETTORATO, R.; GERVINI, R.L.; VETTORATO, G.; WEBER, A. Epidemiology of sporotrichosis: A study of 304 cases in Brazil. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.52, n.3, p.451–459, 2005.

FARIAS, R.O. & XAVIER, M.O. Criptococose, p.191-203. In: Meireles M.C.A. & Nascente P.S. (Eds), *Micologia Veterinária*. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, RS, 2009.

GALIZA, G. J.; SILVA, T. M.; CAPRIOLI, R. A.; TOCHETTO, C.; ROSA, F. B., FIGHERA, R. A.; KOMMERS, G. D. Características histomorfológicas e histoquímicas determinantes no diagnóstico da criptococose em animais de companhia. *Pesq. Vet. Bras.*, 34(3), 261-269, 2014.

GAZZONI, A. F. et al. Histopathology, serology and cultures in the diagnosis of cryptococcosis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.*, v. 51, n. 5, p. 255-259, 2009.

GINN, P.E.; MANSELL, J.E.K.L.; RAKICH, P.M. Skin and appendages. In: Maxie GM, ed. Jubb, Kennedy, and Palmer's. *Pathology of domestic animals*. 5th ed. St Louis: Elsevier Ltd, 703–704, 2007.

GREMIÃO, I.D.F.; MIRANDA, L.H.M.; REIS, E.G.; RODRIGUES, A.M.; PEREIRA, S.A. Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. *PLoS Pathog.*, v.13, n.1, p.2–8, 2017.

GREMIÃO, I.D.F.; MENEZES, R.C.; SCHUBACH, T.M.P.; FIGUEIREDO, A.B.; CAVALCANTI, M.C.H. & PEREIRA, S.A. Feline sporotrichosis: epidemiological and clinical aspects. Advance Access Publication Date: 4 December 2014. Review Article. *Med. Mycol.*, 53, 15–21, 2015.

GREMIÃO, I. D. F.; OLIVEIRA, M. M. E.; DE MIRANDA, L. H. M.; FREITAS, D. F. S.; PEREIRA, S. A. Geographic Expansion of Sporotrichosis, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*. 26(3), 621, 2020.

GROSS, T. L.; IHRKE, P. J.; WALDER, E. J.; AFFOLTER, V. K. In: (Ed.). *Doenças de pele do cão e do gato - diagnóstico clínico e histopatológico*. 2.ed. São Paulo: Roca, p. 298-301, 2009.

GUARNER, J. & BRANDT, M.E. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clin. Microbiol. Rev.*, 24(2):247-280, 2011.

GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; FREITAS, D.F.S.; DO VALLE, A.C.F.; ALMEIDA-PAES, R.; DE OLIVEIRA, M.M.E.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R.M. Epidemiological Aspects of Sporotrichosis Epidemic in Brazil. *Current Fungal Infection Reports*, v.9, n.4, p.238–245, 2015.

GUY, WILLIAM H. Nocardiosis Cutis Resembling Sporotrichosis: Report of a Case. *Arch. Derm. Syphilol.*, 2.2: 137-143, 1920.

IRIZARRY-ROVIRA, A. R.; KAUFMAN, L.; CHRISTIAN, J. Á.; REBERG, S. R.; ADAMS, S. B.; NICOLA, D. B. de; RIVERS, W.; HAWKINS, J. F. Diagnosis of sporotrichosis in a

donkey using direct fluorescein-labeled antibody testing. *J. Vet. Diagn. Invest., Columbia*, v. 12, p.180-183, 2000.

KIENZE, N.; OLVER, S.; BUTTIGIEG, K.; GROVES, P.; JANAS, M.L.; BAZ, A.; KELSO, A. Progressive differentiation and commitment of CD8⁺ T cells to a poorly cytolytic CD8^{low} phenotype in the presence of IL-4. *J. Immunol.*, 174(4): 2021–2029, 2005.

KIRPENSTEIJN, J.; FINGLAND, R. B. Cutaneous actinomycosis and nocardiosis in dogs: 48 cases (1980-1990). *J. Am. Vet. Med. A.*, 201(6):917-920, 1992.

KWON-CHUNG, K.J.; HILL, W.B. & BENNETT, J.E. New special stain for histopathological diagnosis of cryptococcosis. *J. Clin. Microbiol.*, 13:383-387, 1981.

LACAZ, C.S. Esporotricose e outras Micoses Gomosas, p.479-487. In: Lacaz C.S., Porto E., Martins J.E.C., Heis-Vaccari E.M. & Takahashi de Melo N. (Eds), *Tratado de micologia médica*. Lacaz. 9^a ed. Savier, São Paulo, 2002.

LARSSON, C.E. Esporotricose. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.48, n.3, p.250-259, 2011.

LECCA, L.O.; PAIVA, M.T.; DE OLIVEIRA, C.S.F.; NICOLINO, R.R.; BASTOS, C.V.; DE AZEVEDO, M.I.; KELLER, K.M.; SALVATO, L.A.; BRANDÃO, S.T.; DE OLIVEIRA, H.M.R.; MORAIS, M.H.F.; ECCO, R.; LECCH, A.J.Z.; HADDAD, J.P.A.; DE MAGALHÃES SOARES, D.F. Associated factors and spatial patterns of the epidemic sporotrichosis in a high density human populated area: A cross-sectional study from 2016 to 2018. *Prev. Vet. Med.*, p. 104939, 2020.

LOPES-BEZERRA, L.M.; SCHUBACH, A. & COSTA, R.O. Sporothrix schenckii and sporotrichosis. *An. Acad. Bras. Ciênc.*, 78(2):293-308, 2006.

MALIK, R.; KROCKENBERGER, M. O'BRIEN, C.R. MARTIN, P.; WIGNEY, D. & MEDLEAU, L. Cryptococcosis, p.584-598. In: Greene C.E. (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3rd ed. Saunders Elsevier, St Louis, 2006.

MARIMON, R., GENÉ, J.; CANO, J.; TRILLES, L.; DOS SANTOS, L.M.; GUARRO, J. Molecular phylogeny of *Sporothrix schenckii*. *J. Clin. Microbiol.*, v.44, n.9, p.3251-3256, 2006.

MARQUES, S.A.; FRANCO, S.R.V.S.; CAMARGO, R.M.P.; DIAS, L.D.F.; HADDAD JÚNIOR, V. & FABRIS, V.E. Esporotricose do gato doméstico (*Felis catus*): transmissão humana. *Revta Inst. Med. Trop. São Paulo*, 35(4) p327-330, 1993.

MARQUES-MELO, E.H.; LESSA, D.F.S.; NUNES, A.C.B.T.; CHAVES, K.P.; PORTO, W.J.N.; NOTOMI, M.K.; GARRIDO, L.H.A. Felino doméstico como agente transmissor de esporotricose para humano: relato do primeiro caso no estado de Alagoas. *Rev. Baiana Saúde Pública*, v.38, n.2, p.490–498, 2014.

MAULDIN, A. E.; PETERS-KENNEDY, J. Integumentary System. In: Maxie MG, ed. Jubb, Kennedy and Palmers *Pathology of Domestic Animals*. 6th ed. Vol 1. New York, NY: Elsevier Saunders; p.509 -736, 2016.

MEDLEAU, L.; HNILICA, K. A.; FAGLIARI, G. S. *Dermatologia de pequenos animais: atlas colorido e guia terapêutico*. São Paulo: Roca. 2003.

MIRANDA, L. H. M. Padronização da reação de imuno-histoquímica, utilizando soro policlonal de coelho anti-*Sporothrix schenckii*, para o diagnóstico da esporotricose canina. 2009. 84 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) -Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, *Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 2009.

MIRANDA, L.H.M.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; QUINTELLA, L.P.; KURAIEM, B.P.; PEREIRA, S.A.& SCHUBACH, T.M.P. Feline sporotrichosis: histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. *Microbiol. Infect. Dis.*, 36:425-432, 2013.

MIRANDA, L.H.; SANTIAGO, M.A.; SCHUBACH, T.M.; MORGADO, F.N.; PEREIRA, S.A.; DE OLIVEIRA, R.V. et al. Severe feline sporotrichosis associated with an increased population of CD8low cells and a decrease in CD4 cells. *Med Mycol.*, 54(1): 29–39, 2016.

OLIVEIRA, M. M.; ALMEIDA-PAES, R.; MUNIZ, M.M.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; ZANCOPE OLIVEIRA, R.M. Phenotypic and molecular identification of *Sporothrix* isolates from an epidemic area of sporotrichosis in Brazil. *Mycopathology, Dordrecht*, v. 172, n. 4, p. 257-267, 2011.

PAPPALARDO, M.C.S.M. & MELHEM, M.S.C. Cryptococcosis: a review of the brazilian experience for the disease. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.*, 45 (6) p.299-305, 2003.

PEREIRA, S.A.; MENEZES, R.C.; GREMIÃO, I.D.F. et al. Sensitivity of cytopathological examination in the diagnosis of feline sporotrichosis. *J. Fel. Med. Surg.*,13: 220–223, 2011.

POLONELLI, L.; CASADEVALL, A.; HAN, Y.; BERNARDIS, F.; KIRKLAND, T.N.; MATTHEUWS, R.C.; ADRIANI, D.; BOCCANERA, M.; BURNIE, J.P.; CASSONE, A.; CONTI, S.; CUTLER, J.E.; FRAZZI, R.; GREGORY, C.; HODGETTS, S.; ILLIDGE, C.; MAGLIANI, W.; RIGG, G.; SANTONI, G. The efficacy of acquired humoral and cellular immunity in the prevention and therapy of experimental fungal infections. *Med. Mycol.*, 38 (Suppl.1), 281–292, 2000.

RIBEIRO, M. G.; SALERNO, T.; MATTOS-GUARALDI, A. L.; CAMELLO, T. C. F.; LANGONI, H., SIQUEIRA, A. K.; LARA, G. H. B. Nocardiosis: an overview and additional report of 28 cases in cattle and dogs. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 50(3):177-185, 2008.

RODRIGUES, A.M.; BAGAGLI, E.; DE CAMARGO, Z.P.; BOSCO, S.M. *Sporothrix schenckii* sensu stricto isolated from soil in an armadillo's burrow. *Mycopathology*. 177(3-4):199-206, 2014.

RODRIGUES, A.M.; DE HOOG, G.S.; DE CAMARGO, Z.P. *Sporothrix* species causing outbreaks in animals and humans driven by animal-animal transmission. *PLoS Pathog.*, 12(7): e1005638, 2016.

RODRIGUES, A.M.; HOOG, G.S.; ZHANG, Y.; DE CAMARGO, Z.P. Emerging sporotrichosis is driven by clonal and recombinant *Sporothrix* species. *Emerg. Microbes Infect.*, v.3, p.1-10, 2014.

SANTOS, A.F.; ROCHA, B. D.; BASTOS, C.V.; OLIVEIRA, C.S.F.; SOARES, D.F.M.; PAIS, G.C.T.; FERREIRA, L.; SARAIVA, L.H.G.; ANDRADE, M.B.; PAIVA, M.T.; ALVES, M.R.S.; MORAIS, M.H.F.; DE AZEVEDO, M.I.; TEIXEIRA, M.K.I.; ECCO, R.; BRANDÃO, S.T. Guia prático para enfrentamento da esporotricose felina em Minas Gerais. *Revista Veterinária & Zootecnia em Minas*, 137(38), 16-27, 2018. Guia prático para enfrentamento da esporotricose felina em Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 137, n. 38, p.16-27, 2018.

SCHENK, B.R.: On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the sporotrichosis. *Johns Hopkins Hosp Bul.*, 286–90, 1898.

SCHUBACH, A. Sporotrichosis. In: Greene, C.E. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*-E-Book. St. Louis: Elsevier Health Sciences. p.1376, 2013.

SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.224, n.10, p.1623-1629, 2004.

SCHUBACH, T.M.P.; MENEZES, R.C.; WANKE, B. Sporotrichosis. In: Greene, C.E. (ed.). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4. ed. St. Louis: Elsevier, p.645- 650, 2012.

SILVA, J.N.; PASSOS, S.R.L.; MENEZES, R.C.; GREMIÃO, I.D.F.; SCHUBACH, T.M.P.; OLIVEIRA, J.C.; FIGUEIREIDO, B.F.A.; PEREIRA, A.S. Diagnostic accuracy assessment of cytopathological examination of feline sporotrichosis. *Med. mycol.*, v.53, n.8, p.880-884, 2015.

SCOTT, D. W.; MULLER, G. H.; KIRK, R. W. (1996). *Dermatologia dos pequenos animais* (Vol. 1). Rio de Janeiro: Interlivros. 1996.

SILVA, M.A.; MEDINA, R.M.; RIBEIRO, R.B.; SILVEIRA, R.L.; CARVALHO, E.C.Q. Aspectos anatomopatológicos da esporotricose felina. *J. Bras. Ciência Animal*. v.6, n.11, p.418-426, 2013.

SIMÕES-MATTOS, L.; MATTOS, M. R. F.; TEIXEIRA, M. J.; OLIVEIRA-LIMA, J. W.; BEVILAQUA, C. M. L.; PRATA JUNIOR, R.; HOLANDA, C. M.; RONDON, F. M. C.; BASTOS, K. M. S.; COELHO, Z. C. B.; COELHO, I. C. B.; BARRAL, A.; POMPEU, M. M. L. The susceptibility of domestic cats (*Felis catus*) to experimental infection with *Leishmania braziliensis*. *Vet. Parasitol., Amsterdam*, v. 127, n. 3-4, p. 199-208, 2005.

TRAYNOR, T.R.; HUFFNAGLE, G.B. Role of chemokines in fungal infections. *Med. Mycol.*, 39, 41–50, 2001.

VIDES, J. P.; SCHWARDT, T. F.; SOBRINHO, L. S.; MARINHO, M.; LAURENTI, M. D.; BIONDO, A. W.; LEUTENEGGER, C.; MARCONDES, M. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil. *Vet. Parasitol., Amsterdam*, v. 178, n. 1-2, p. 22-28, 2011.

WHITE, T.J.; BRUNS T.; LEE S. & TAYLOR J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J. & White, T.J. (Eds). PCR Protocols: A guide to methods and applications. *New York: Academic Press Inc.*, p.315-322, 1990.

ZHANG, Y.; HAGEN, F.; STIELOW, B.; RODRIGUES, A.M.; SAMERPITAK, K.; ZHOU, X.; FENG, P.; YANG, L.; CHEN, M.; DENG, S.; LI, S.; LIAO, W.; LI, R.; LI, F.; MEIS, J. F., GUARRO, J., TEIXEIRA, M., AL-ZAHRANI, H. S., DE CAMARGO, Z. P., ZHANG, L.; DE HOOG, G.S. Phylogeography and evolutionary patterns in *Sporothrix* spanning more than 14000 human and animal case reports. *Persoonia Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, v. 35, n. 1, p. 1–20, 2015.

Capítulo 2

Esporotricose felina: distribuição das lesões e caracterização anatomopatológica em 110 gatos utilizando diversos métodos de diagnóstico

1. Introdução

Esporotricose é uma infecção crônica da pele e do tecido subcutâneo causada por um fungo dimórfico (Gross et al., 2009). O gênero *Sporothrix* pertence à família Ophiostomataceae, ordem Ophiostomatales, subclasse Euascomycetes e divisão Ascomycota (Oliveira et al., 2011), e é composto pelas espécies: *S. brasiliensis*, *S. chilensis*, *S. globosa*, *S. luriei*, *S. mexicana*, *S. pallida* e *S. schenckii* (Marimon et al., 2006; Zhang et al., 2015). Essa doença tem sido descrita em diversas espécies como gatos, cães, equinos, camundongos, marsupiais (Coiacetto et al., 2019) e seres humanos (Irizarry- Rovira et al., 2000). A maioria dos casos em seres humanos no Brasil são por transmissão zoonótica pelo gato, e estão relacionados ao *S. brasiliensis* (Rodrigues et al., 2014). A esporotricose possui diferentes manifestações clínicas classificadas em: cutânea localizada ou disseminada, linfocutânea e extracutânea ou sistêmica (Lacaz, 2002, Ginn et al., 2007, Téllez et al., 2014). Em gatos estas manifestações podem ocorrer simultaneamente (Schubach et al., 2004). A ocorrência da forma extracutânea em gatos foi relatada, por histopatologia, no pulmão (Kier et al., 1979; Schubach et al., 2003), linfonodos, baço (Schubach et al., 2003) e região nasal com envolvimento da mucosa (Miranda et al. 2013; Gremião et al., 2015). Somente por isolamento o agente foi identificado no fígado, baço, rins, coração (Schubach et al., 2003) e ossos (Franceschi et al., 2017), ainda possuindo lacunas quanto a sua frequência e órgãos ou tecidos mais acometidos.

Além disso, há estudos que relacionaram o envolvimento visceral baseado em sinais clínicos respiratórios sem avaliação macroscópica e microscópica dos órgãos internos (Schubach et al., 2004). O diagnóstico pode ser realizado por meio do exame citopatológico, pois frequentemente a carga fúngica nas lesões cutâneas do gato é alta (Gremião et al., 2015) e por histopatologia, podendo incluir colorações especiais quando necessário (Bazzi et al., 2016), além do isolamento do agente etiológico em cultura (Gremião et al., 2015). Testes moleculares (Rodrigues et al., 2015), ou por imuno-histoquímica (Bazzi et al., 2016) também foram descritos. Dificuldades na obtenção do diagnóstico podem ocorrer em gatos com baixa carga fúngica nas lesões, necessitando ampliar o número de técnicas para a identificação da levedura (Bazzi et al., 2016).

Considerando a importância de esclarecer melhor sobre a ocorrência de lesões extracutâneas de esporotricose e sobre a confirmação da etiologia nas lesões com baixa quantidade de leveduras, o objetivo desse estudo foi caracterizar por exames macroscópico,

microscópico e complementares, as lesões cutâneas e extracutâneas em 110 gatos suspeitos da doença na região metropolitana de Belo Horizonte.

2. Materiais e métodos

2.1. Amostragem

As amostras foram constituídas por gatos recebidos ou resgatados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Belo Horizonte (CCZ-BH) com suspeita clínica de esporotricose felina. Os gatos (peri-domiciliados e errantes) foram avaliados clinicamente e submetidos a eutanásia segundo as normas da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMG (CEUA - 111/2017). Em seguida, os gatos foram encaminhados ao setor de Patologia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, no período de março de 2018 a março de 2019.

2.2. Histórico clínico, exame *post-mortem*, coleta de amostras e exames laboratoriais

O histórico clínico foi obtido junto aos proprietários e veterinários dos gatos submetidos para exame *post mortem*. Foram examinados 110 gatos e, destes animais, foi realizada a coleta de amostras para os exames laboratoriais. Durante a necropsia dos gatos foi realizada a avaliação macroscópica de todos os órgãos com descrição detalhada das lesões encontradas. Todas as lesões cutâneas foram fotodocumentadas e igualmente as lesões nos demais órgãos quando presentes.

2.3. Citopatologia

O exame citopatológico foi realizado por *imprint* em todos os gatos e de todas as lesões cutâneas imediatamente antes de iniciar a necropsia. As lesões ulceradas na pele eram secas com papel para remoção do excesso de exsudato, enquanto para as lesões com crostas, estas eram previamente removidas para então pressionar a lâmina de vidro levemente sobre a superfície da lesão. Para avaliação destas lâminas, foi realizada a coloração de Romanowsky (Meinkoth et al., 2008) e avaliação da presença do fungo ao microscópio de luz comum.

2.2. Topografia das lesões cutâneas

As lesões cutâneas foram separadas por regiões anatômicas para identificação dos locais mais acometidos (Figura 1). A divisão foi feita em: região periocular, que compreende lesões

na porção pilosa das pálpebras superiores e inferiores; região de orelha, que compreende lesões na pele de toda a orelha externa do animal; região de plano nasal; região de cabeça, que compreende o restante das lesões cutâneas na face do animal até a articulação atlanto-occipital; região cervical dorsal, que compreende a pele pilosa dorsal às articulações cervicais; região tóraco-lombar dorsal, a qual compreende a pele sobre as articulações torácicas e lombares; membros torácicos, que compreende lesões cutâneas da porção mais dorsal da escápula até os dígitos; membros pélvicos, que foram as lesões de pele da região da articulação coxo-femoral até os dígitos; e a região de cauda que compreende toda a cauda do animal até a inserção na vértebra sacral.

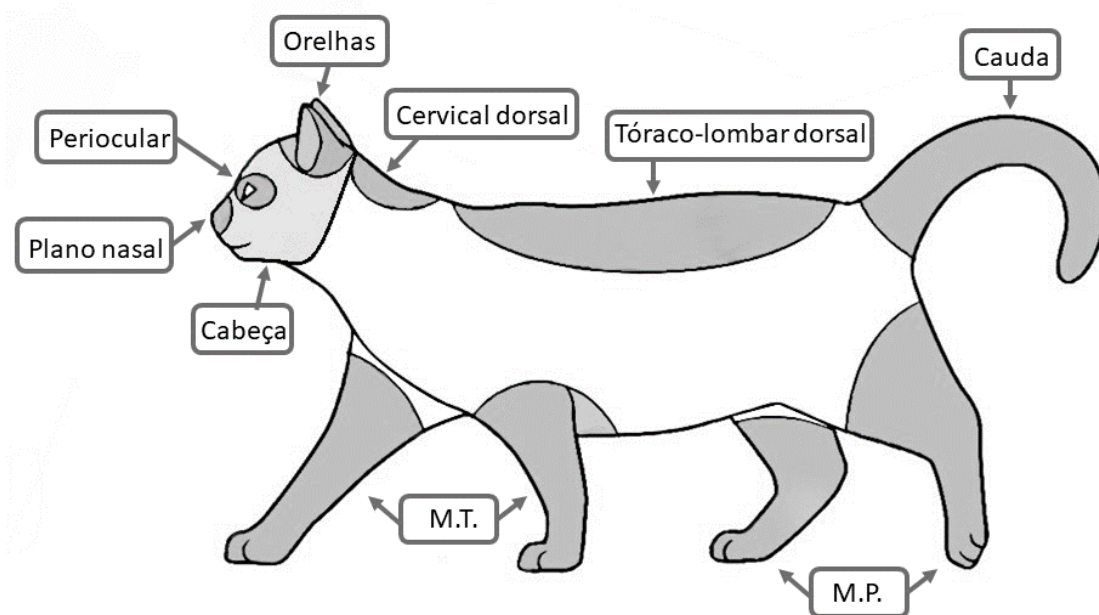


Figura 1. Regiões anatômicas que foram mapeadas para obter a distribuição das lesões. M.T.: membros torácicos; M.P.: membros pélvicos.

2.3. Histopatologia

Amostras de lesões cutâneas, pulmão, coração, fígado, baço, rins, intestino, encéfalo, medula óssea, linfonodos cervicais superficiais, mandibulares, poplíteos e mesentéricos foram coletadas para exame histopatológico. Quando lesões macroscópicas foram visualizadas, em cada animal foram coletadas amostras de corneto nasal, conjuntiva, língua e testículo nos machos. Estas amostras foram fixadas em formol tamponado neutro 10% durante 48h, processadas com desidratação em séries crescentes de álcool, diafanização em xilol, impregnação por parafina e posteriormente, inclusão dos tecidos em parafina. Os tecidos foram então seccionados em cortes de 3µm de espessura em micrótomo, colocadas em lâmina de vidro e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (Luna, 1968) para análise em microscopia de luz comum. Quando necessário, foram realizadas colorações especiais pelo ácido periódico-Schiff (PAS) e impregnação pela prata de *Grocott-Gomori* (GMS) para melhor identificação do

fungo (Bazzi, et al., 2016). As colorações de *Good pasture* e *Ziehl-Neelsen* foram realizadas quando as leveduras não foram visualizadas pelos outros métodos para os diagnósticos diferenciais. Para a histopatologia das lesões cutâneas, os processos inflamatórios foram classificados em: piogranulomatoso, granulomatoso e histiocitário e plasmocitário, de acordo com os tipos celulares predominantes.

Para quantificação quanto a intensidade das leveduras nas lesões, foi realizada a média da contagem de 10 campos na objetiva de maior aumento (400×). Os critérios estão descritos na tabela 1.

Todos os órgãos coletados para exame histopatológico foram detalhadamente analisados quanto a presença de lesões possivelmente causadas pelo fungo *Sporothrix*. Para verificar a sensibilidade das técnicas quanto a identificação da presença de leveduras, realizou-se o exame comparativo das lâminas citopatológicas, histopatológicas e imuno-histoquímicas, além dos resultados da cultura de *swab* coletados e processados pelo Laboratório de micologia e micotoxinas da UFMG (LAMICO).

Tabela 1: Definição da classificação histopatológica e quantificação das leveduras nas lesões cutâneas.

Tipo de infiltrado inflamatório	Descrição
Piogranulomatoso	Infiltrado predominante de macrófagos epitelioides e neutrófilos.
Granulomatoso	Infiltrado predominante de macrófagos epitelioides formando agregados múltiplos.
Histiocitário e plasmocitário	Infiltrado predominante de macrófagos e plasmócitos, sem a presença de macrófagos epitelioides.

Intensidade de leveduras	Descrição
Discreto	Até 10 leveduras/campo
Moderado	11 a 100 leveduras/campo
Acentuado	Acima de 100/campo

2.4. Imuno-histoquímica

As amostras de pele negativas na coloração de rotina e os órgãos com suspeita de lesão causada pelo *Sporothrix* foram submetidos ao teste imuno-histoquímico para confirmação do

agente na lesão. A técnica foi realizada como descrita por Miranda (2009) com modificações. O anticorpo utilizado foi um soro policlonal de coelho anti-*Sporothrix schenckii* gentilmente cedido pelo Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro. Foram realizados cortes de 3µm em micrótomo em lâminas silanizadas, a desparanifização foi em estufa à 60°C durante 20 minutos e, a seguir, à temperatura ambiente, por 25 minutos, e em imersões sequenciais de xilol. Em seguida, realizou-se a re-hidratação do tecido em imersões sequenciais em álcool a concentrações decrescentes (100%, 90%, 80%, 70%), banho em água destilada por dez minutos e em seguida também em tampão PBS (*phosphate-buffered-saline*). A inibição da peroxidase endógena foi realizada com *Peroxidase-blocking* reagente Envision Flex HRP SM801 (DAKO) durante 30 minutos e posteriormente com solução de peróxido de hidrogênio 30% na concentração de 40mL/100mL em metanol durante 30 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas em solução de PBS. A inibição de reações inespecíficas foi realizada com solução de leite em pó desnatado (Molico®) na concentração de 0,05 g/ml em tampão PBS, durante 40 minutos. Os cortes foram incubados com o soro anti-diluído em BSA 1,5% em *S. schenckii* em câmara úmida overnight (16h) a 4° C. A marcação das leveduras foi obtida com o soro anti-*S. schenckii* em concentração ideal de 1:8000. O anticorpo secundário foi da Envision flex HRP (DAKO), com lavagens em PBS após cada uma hora de incubação. Para a revelação, foi realizada diluição de 50µl do reagente DAB em 1ml do substrato, no qual foi utilizado 100µl dessa solução em cada corte e incubado em câmara úmida em temperatura ambiente por 3 minutos e depois lavados em água destilada por 10 minutos. A contra-coloração foi feita com hematoxilina de Mayer e banhados rapidamente em água corrente. A desidratação foi realizada por imersões sequenciais em álcool em concentrações crescentes (70% a 100%), para posterior imersão no xilol e montagem das lâminas.

2.5. Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Amostras individuais de lesão cutânea, linfonodo cervical superficial (com linfadenomegalia mais intensa), baço e fígado foram coletados para os testes moleculares. As pinças e tesouras foram higienizadas com água e sabão e em seguida mergulhadas em álcool 70% antes da coleta de cada fragmento para evitar contaminação. Em seguida, os tecidos foram armazenados individualmente em microtubos e congelados a -20°C para os exames moleculares. Os gatos negativos em todos os outros testes e os gatos com maior acometimento de órgãos e tecidos extracutâneos foram submetidos a extração de DNA e reação em cadeia da polimerase (PCR).

A extração do DNA dessas amostras foi feita de acordo com protocolo descrito por Möller et al. (1992) e modificado por Klassen et al. (1996). Os primers utilizados foram para sequência parcial do gene calmodulina nuclear, CL1 (5'GA(GA)T (AT)CAAGGAGGCCTTCTC3') e CL2A (5'TTTTTGCATCATGAGTTGGAC-3'), descrito por O'Donnell et al. (2000). Os componentes da PCR constituíram uma solução de 25µl usando 3 µl do DNA total, 1,5 µl de MgCl₂ (Invitrogen), 0,5 µl de dNTP mix (Invitrogen), 0,5 µl de

TaqDNA polimerase (Invitrogen), 2,5 µl de Buffer10x (Invitrogen) e 1µl de cada primer. O controle positivo foi obtido de amostras de culturas positivas para o *Sporothrix schenckii* e como controle negativo foram utilizados os primers juntamente com os reagentes e água ultrapura sem DNA. Os parâmetros de ciclos foram: pré-incubação a 94°C por 15 min, seguida de 35 ciclos constituídos por desnaturação inicial a 94°C durante 30s, anelamento a 57°C durante 90s, extensão a 72°C por 1 min e uma extensão final a 72°C por 10 min. O DNA amplificado foi analisado pelo sistema de eletroforese em cuba horizontal em gel de agarose a 2% contendo 1X de tampão tris-borato-EDTA e 2µl de brometo de etídio a 100V por 10 minutos e em seguida a 120V por mais 40 minutos. A visualização dos produtos amplificados foi feita por transiluminação do gel em luz ultravioleta. O tamanho dos produtos amplificados foi comparado a um padrão de peso molecular (LowRanger 100bp DNA Ladder-Norgen®) disposto no gel juntamente com as amostras analisadas.

2.6. Sequenciamento

O sequenciamento parcial do genoma do fungo foi realizado para a identificação da espécie de *Sporothrix* presentes nos gatos com maior quantidade e intensidade de lesões cutâneas e quando possuíam lesões extra cutâneas. O gato selecionado para este teste apresentou lesões com intensa carga fúngica na pele (múltiplas lesões), lesão na conjuntiva, olho, corneto nasal, pulmão, linfonodos superficiais e meninge. A extração, amplificação e PCR da amostra (pele e linfonodos) foi feita de acordo com os métodos já descritos anteriormente. O produto obtido na PCR foi purificado utilizando o Kit PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen), conforme recomendações do fabricante e encaminhado para o sequenciamento. Cada amostra foi sequenciada, nas direções *forward* e *reverse*, pelo método Sanger utilizando o Big Dye Terminator Mix V3.1 (Applied Biosystems®, EUA) com a reação de sequenciamento capilar ABI 3730 (Applied Biosystems®, USA). As sequências obtidas tiveram sua qualidade avaliada pelo *Sequence Scanner™ Software 2* (Applied Biosystems, Foster City) e editadas no MEGA 7 (Kumar et al., 2016). Em seguida, as sequências obtidas e as sequências disponíveis no *GenBank* foram alinhadas utilizando-se o MAFFT (Katoh et al., 2005), Crustal W (Thompson et al., 1994) e Bioedit Sequence Alignment software versão 7.2.5 (Hall, 1999).

3. Resultados

3.1. Histórico clínico e lesões macroscópicas

Segundo histórico obtido junto aos proprietários e veterinários dos gatos submetidos para exame *post mortem*, os sinais clínicos eram caracterizados por apatia progressiva, diminuição do apetite e perda de peso. Sinais respiratórios não foram relatados. Em relação ao

tratamento, cinco gatos foram tratados (sem informação do medicamento utilizado), 59 não foram tratados e o restante (46/110) a probabilidade terapêutica é praticamente ausente por serem animais semi-domiciliados ou errantes.

Foram examinados macroscopicamente 110 gatos. Destes, 78 (70,91%) eram machos e 32 (29,09%) eram fêmeas. Todos os gatos apresentaram lesões cutâneas em diferentes regiões e com intensidades variadas. Macroscopicamente, os gatos apresentaram escore corporal baixo (escore 2/5), com ausência ou discreta cobertura adiposa.

Achados condizentes com anemia (sangue com quantidade e viscosidade diminuída e musculatura vermelho-pálida) foram visualizados em 11 gatos (11/110). Icterícia discreta foi encontrada em seis gatos. O principal achado foi a linfadenomegalia generalizada, que variou de discreta (23/110), moderada (39/110) e acentuada (41/110) (Figura 2). Em seis gatos não havia alterações nos linfonodos. Trinta e dois gatos apresentavam aumento de volume na região de plano nasal, associado ou não a lesão ulcerativa. Nos pulmões havia congestão e edema (48/110), e outros achados mais raros como área focal ou multifocal de hemorragia (5/110), pleura parietal espessada (3/110), área focal bem delimitada, elevada, esbranquiçada e firme (2/110), sendo o restante macroscopicamente normais (46/110). No baço havia principalmente esplenomegalia por expansão de polpa branca (39/110), hiperplasia da polpa branca (9/110) ou ambas (13/110), e congestão (23/110) (Figura 3). A única alteração macroscópica encontrada no fígado era evidenciação do padrão lobular (73/110), variando de leve a acentuado, e congestão (20/110). Em relação ao sistema gastrointestinal, foram encontradas lesões ulcerativas na região ventro-lateral ou dorso-lateral da língua de três gatos. Ao corte, as lesões eram esbranquiçadas, firmes, bem delimitadas e se aprofundavam até a camada muscular (Figura 4). No intestino delgado de 18 animais foram encontrados nematódeos sugestivos de *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* spp. Em nove gatos as conjuntivas estavam aumentadas, edemaciadas, brilhantes e hiperêmicas. Ao corte fluía líquido viscoso translúcido (edema) (7/9), ou era esbranquiçada e firme (2/9). Dos gatos machos, 11/78 apresentavam na pele da bolsa escrotal lesão ulcerativa focalmente extensa com exsudação purulenta acentuada. Ao corte havia material esbranquiçado e firme que se expandia até a túnica vaginal. Alguns destes achados macroscópicos estão representados na Figura 3.

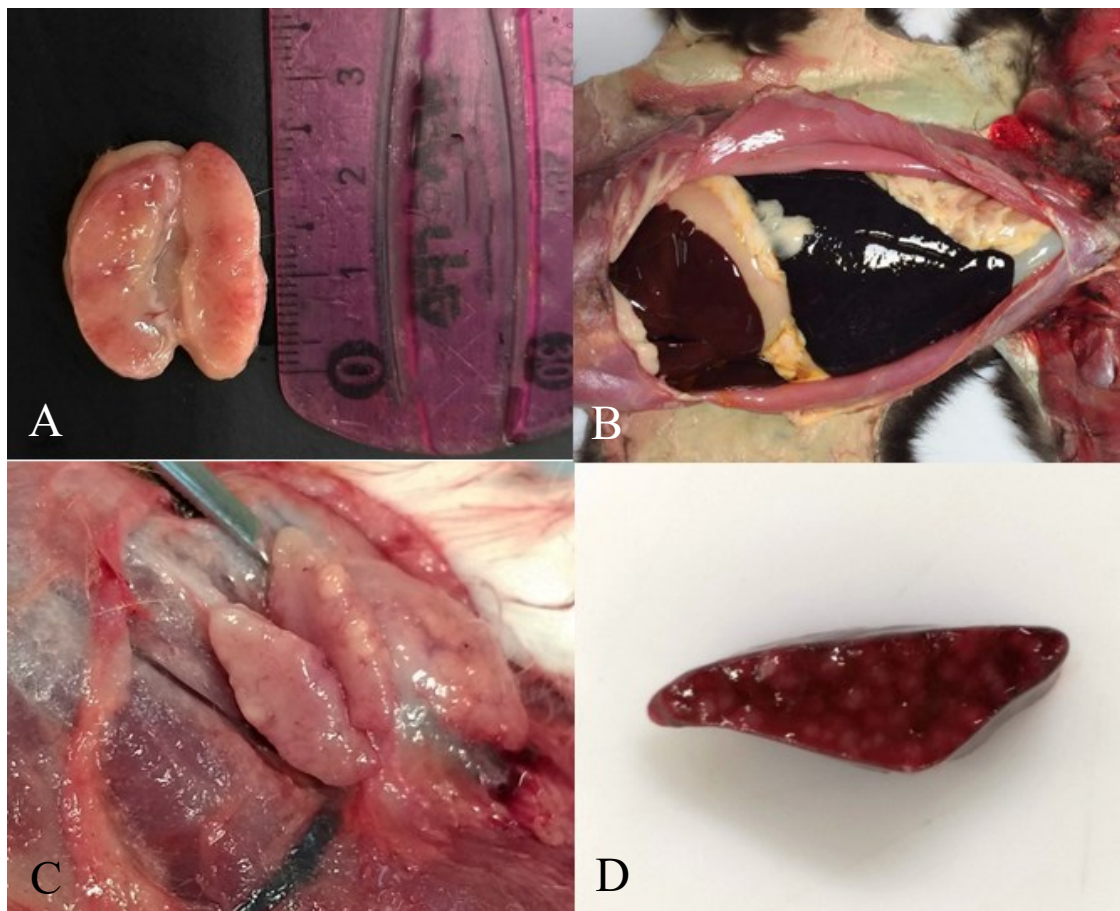


Figura 2: Achados anatomopatológicos dos órgãos linfoides de gatos com esporotricose. A: linfonodo cervical superficial com linfadenomegalia acentuada e difusamente esbranquiçado, com perda da distinção córtico-medular. B: cavidade abdominal quase toda ocupada pelo baço, que está intensamente aumentado e vermelho-escuro. C: linfonodo mandibular aumentado de tamanho, esbranquiçado e com áreas multifocais elevadas nodulares na cortical (hiperplasia). D: superfície de corte do baço com evidência da polpa branca (hiperplasia) e bordas levemente abauladas.

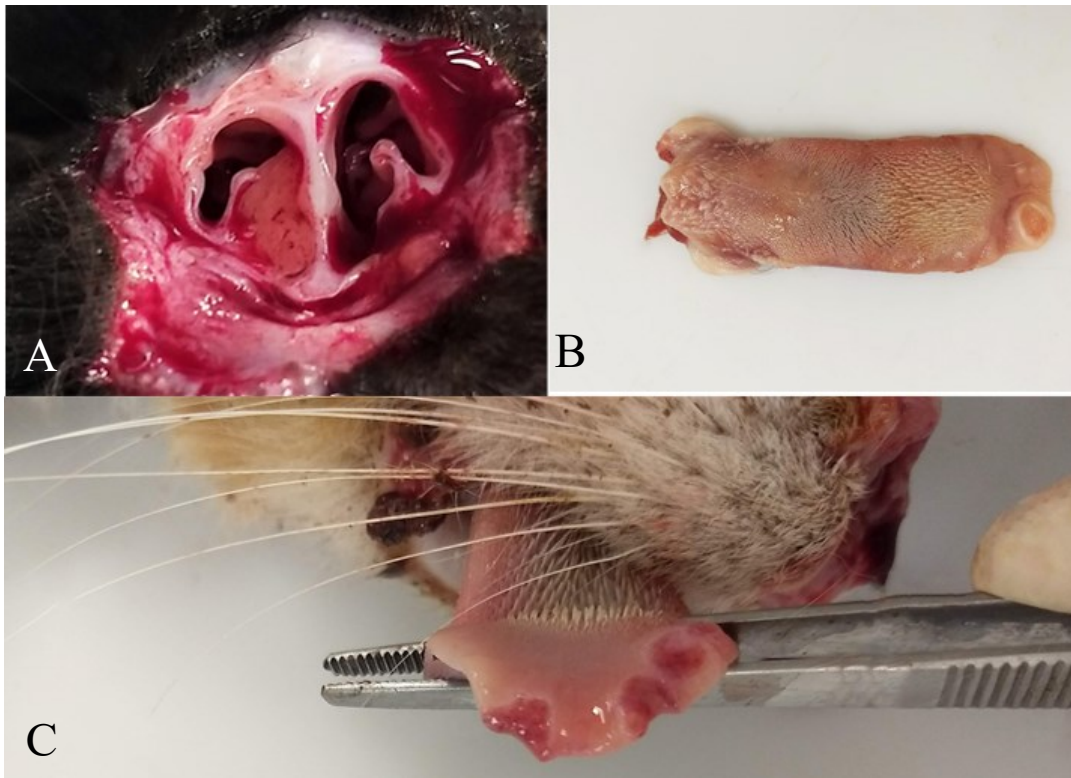


Figura 3: Achados anatomopatológicos dos órgãos de gatos com esporotricose. A: corneto nasal unilateralmente espessado por material amarelado, homogêneo e firme. B: superfície dorsal da língua com lesão ulcerativa circular, única, com perda do epitélio e com bordas brancas e elevadas. C: Ápice da língua com ulcerações multifocais bem delimitadas acentuadas.

3.2. Distribuição e características macroscópicas das lesões cutâneas

As lesões variaram intensamente quanto a localização (Figura 4). As regiões de maior acometimento foram: membros torácicos (63/110; 57,3%), região de face (58/110; 52,7%) sendo 48/58 com lesões múltiplas e 10/58 com lesões únicas, seguido de região de plano nasal (56/110; 50,9%), orelha (54/110; 49,1%), membros pélvicos (50/110; 45,5%), região periocular (45/110; 40,9%), tóraco-lombar dorsal (27/110; 24,5%), cauda (20/110; 18,2%) e região cervical dorsal (14/110; 12,7%).

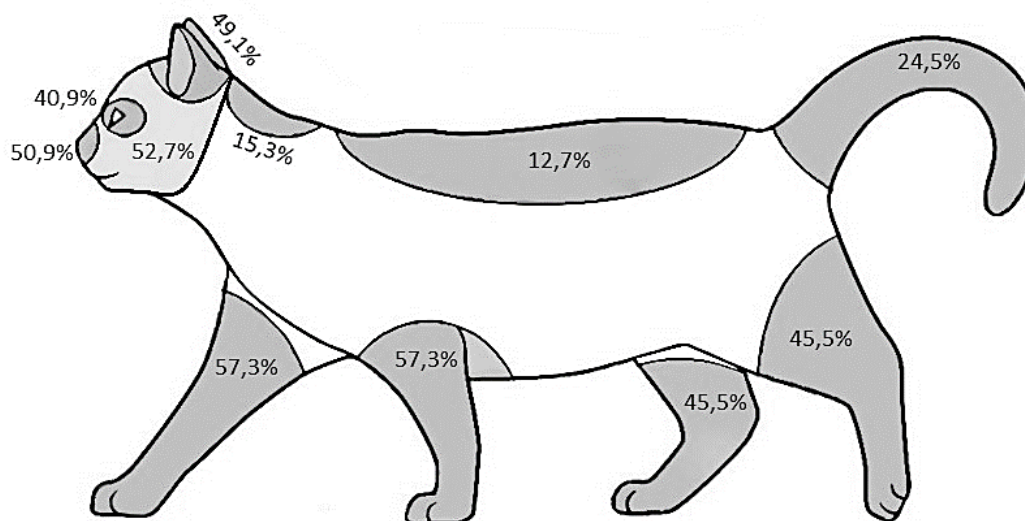


Figura 4: Distribuição das lesões cutâneas dos 110 gatos incluindo a porcentagem de acometimento, Belo Horizonte, 2019.

Em relação às características macroscópicas relacionadas ao aspecto e tamanho, as lesões cutâneas variavam intensamente.

As ulcerações eram pequenas e discretas ou focalmente extensas e intensamente ulcerativas ou multifocais e intensas, podendo ser elevadas ou nodulares (Figura 5). Ao corte, as lesões se estendiam para a derme profunda, com proliferação de tecido firme, esbranquiçado e homogêneo. Com menor frequência constatarem-se lesões nodulares focais não ulceradas. Contudo, ao corte, assemelha-se ao descrito anteriormente. O exsudato variava de purulento, sanguinolento ou ambos ou as lesões eram secas ou crostosas (Figura 6).

Lesões cutâneas múltiplas ocorreram em 90 de 110 gatos, enquanto lesões únicas ocorreram em 20 de 110 gatos.



Figura 5: Distribuição e tipos de lesões cutâneas em gatos com esporotricose. A: ulceração levemente elevada. B: úlceras crostosas múltiplas em quantidade moderada. C: lesão ulcerativa focalmente extensa e acentuada; D: membros torácicos com lesões ulcerativas focalmente extensas acentuadas. E: lesões multifocais acentuadas de diversos tamanhos no dorso; F: lesões

ulcerativas extensas e elevadas no membro torácico; G e H: plano nasal intensamente aumentado de volume na ausência de ulcerações na superfície cutânea.



Figura 6: Tipos de exsudatos na esporotricose cutânea em gatos. A: lesões multifocais secas e crostosas.; B: lesão intensamente sanguinolenta; C: lesão ulcerativa com quantidade discreta de exsudato purulento.

3.3. Citopatologia

Lâminas de 87 gatos foram examinadas, no qual 65 (74,72%) foram positivas e 22 (25,28%) foram negativas. As leveduras eram numerosas medindo aproximadamente 10 µm de diâmetro, presentes no citoplasma de macrófagos e extracelulares. Estas leveduras eram arredondadas ou ovaladas, com raros brotamentos e acompanhadas por plasmócitos e neutrófilos em intensa quantidade.

3.3. Histopatologia cutânea

Lesões de pele de 110 gatos foram examinadas e obteve-se 106 (96,6%) gatos com lesões compatíveis ou consistentes com esporotricose (Figura 8). Destes gatos, em 74/106 (69,81%) foram visualizadas leveduras de *Sporothrix* na coloração de rotina, predominando a morfologia mais arredondada comparada a ovalada, com tamanho variando de 5 a 10 µm e por vezes com brotamentos. Além disso, ao comparar as lesões múltiplas e únicas, leveduras em quantidade acentuada foram mais frequentes nas lesões múltiplas (46,5%) comparada às lesões únicas (37,5%).

Dos 106 gatos, 53 tiveram infiltrado piogranulomatoso na derme superficial e profunda e alguns também no subcutâneo, com diferentes distribuições e intensidades. Nestes, foram visualizadas leveduras em 54,72% (29/53) com intensidade variando de discreta (8/29), moderada (6/29) a acentuada (15/29).

Em 41 dos 106 gatos havia infiltrado predominantemente histiocitário e plasmocitário na derme superficial e profunda em diferentes intensidades e distribuições. Destes, foram identificados 87,80% (36/41) com leveduras intra-histiocitárias ou livres no tecido, com intensidade discreta (2/36), moderada (9/36) ou acentuada (25/36).

Em 12/106 gatos havia infiltrado granulomatoso, também com variação de intensidade e distribuição. Desses, em 33,4% (5/12) havia leveduras em quantidade discreta (1/5), moderada (1/5) ou acentuada (3/5).

Além dessas lesões, quatro de 110 gatos foram diagnosticados com outras doenças, incluindo carcinoma de células escamosas (3/4) e nocardiose cutânea (1/3). Não havia alterações nos demais órgãos desses animais.

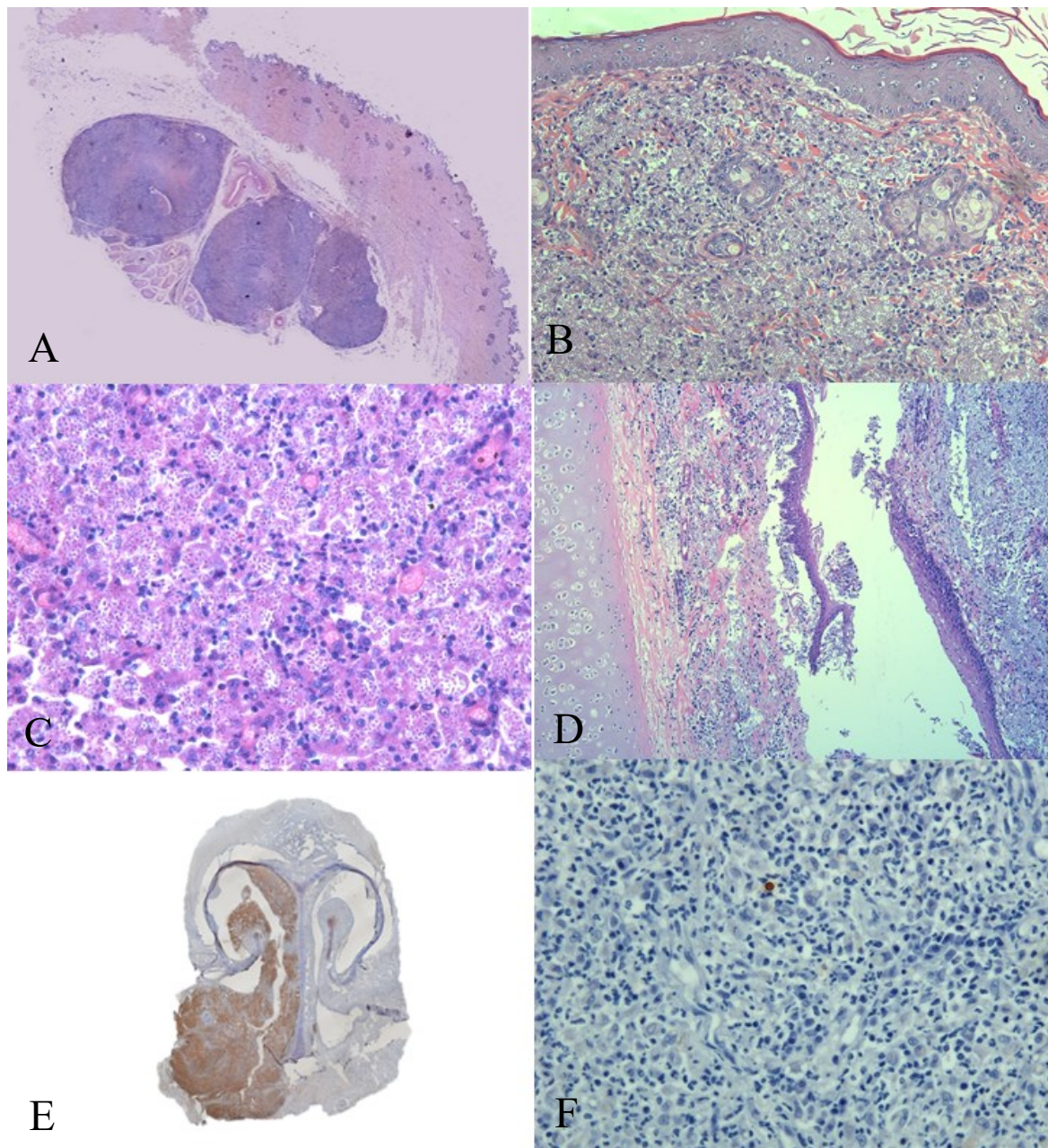


Figura 7: Histopatologia e imuno-histoquímica da pele e corneto nasal de gatos com esporotricose. A: imagem submacroscópica da pele com granuloma bem definido na derme profunda (H.E.). B: derme superficial e profunda infiltrada por células inflamatórias, multifocal a coalescente, expandindo o interstício (H.E.), Obj. 4; C: maior aumento da lesão mostrada na fig. 8B, contendo macrófagos com numerosas leveduras (H.E.), Obj. 40. D: corneto nasal com erosão e lâmina própria espessada por intenso infiltrado de macrófagos contendo leveduras (H.E.), Obj. 10; E: imagem submacroscópica de corneto nasal com marcação positiva (marrom) das leveduras de *Sporothrix* spp. com aumento de volume unilateral acentuado. Imuno-histoquímica e contracoloração pela hematoxilina. F: Pele de um gato com dermatite granulomatosa com uma única levedura imunomarcada de forma homogênea (marrom), caracterizando as lesões com quantidade mínima de leveduras. Imuno-histoquímica. Contra coloração por hematoxilina. DAB, Obj. 40.

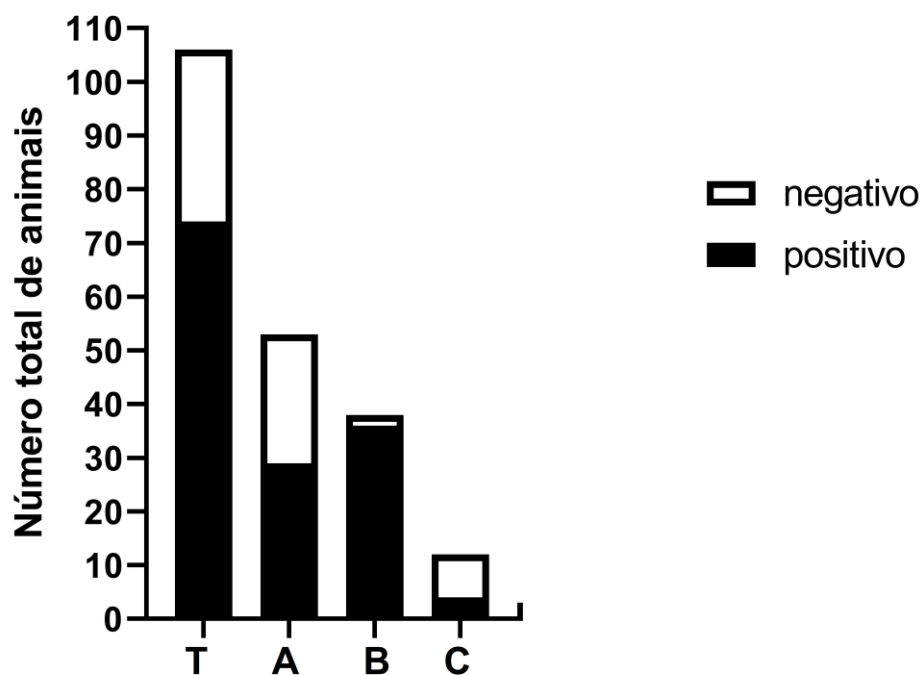


Figura 8: Positividade para *Sporothrix* das lesões cutâneas dos gatos na coloração por hematoxilina e eosina. T: Total de animais com lesões de esporotricose; A: lesões com infiltrado piogranulomatoso; B: lesões com infiltrado histiocitário e plasmocitário; C: lesões com infiltrado granulomatoso.

3.4. Histopatologia dos órgãos

Dos 56 cornetos nasais coletados, havia lesões em 45 (80,3%), sendo que 29/45 (64,45%) continham leveduras em quantidades/intensidades diferentes, visualizadas na coloração de rotina. A lesão mais frequente foi o aumento de volume dos cornetos nasais bilateral ou unilateral e do septo nasal por células inflamatórias na mucosa e submucosa, sem atingir a cartilagem. As células eram constituídas predominantemente por macrófagos, plasmócitos e raros linfócitos, macrófagos epitelioides e algumas vezes por macrófagos multinucleados. Além disso, havia necrose e restos celulares, hiperemia e hipertrofia endotelial dos capilares e vênulas. Necrose e perda do epitélio da mucosa, quando presentes, era focal ou multifocal. A lesão foi denominada de rinite e/ou rinosinusite plasmocitária e histiocitária (16/45), piogranulomatosa (14/45), granulomatosa (6/45), predominantemente histiocitária (5/45) e histiolinfoplasmocitária (4/45).

Em relação aos linfonodos acometidos, 50 de 106 gatos (47,17%) continham leveduras em pelo menos um dos linfonodos superficiais externos. Foram coletados 107 linfonodos

cervicais superficiais, 107 linfonodos mandibulares, 103 linfonodos poplíteos e 101 linfonodos mesentéricos. Nos três primeiros, as leveduras foram identificadas por coloração de rotina em 42/107 (39,24%), 40/107 (37,38%) e 38/103 (36,89%), respectivamente. Nos linfonodos mesentéricos, as leveduras não foram visualizadas por coloração de rotina, por colorações especiais (GMS e PAS) ou por imuno-histoquímica.

Em relação a totalidade dos linfonodos, em 120 dos 317 linfonodos (37,85%) havia macrófagos com leveduras intracitoplasmáticas nos seios subcapsulares e medulares, e em raros casos (6/317; 1,89 %), no centro dos folículos linfóides. Em 30 linfonodos superficiais (7 cervicais superficiais, 12 mandibulares e 11 poplíteos) foram constatadas lesões necróticas associadas a restos celulares, numerosos neutrófilos e macrófagos epitelioides, além de plasmocitose moderada a acentuada (linfadenite piogranulomatosa). Estas lesões eram variáveis com relação a distribuição e intensidade de necrose. Com relação a distribuição, a lesão necrótica e inflamatória era focalmente extensa ou multifocal a coalescente, envolvendo a região cortical, paracortical e com menor frequência a região medular. No entanto, macrófagos com leveduras e neutrófilos foram identificados nos seios corticais e medulares com maior frequência, independente do envolvimento das outras regiões. Nos linfonodos com lesões granulomatosas (n=30), em oito (dois mandibulares e seis poplíteos), não foram observadas leveduras. Além dessas lesões, 108 linfonodos externos (38 cervicais superficiais, 36 mandibulares e 36 poplíteos) estavam com os seios subcapsulares e medulares intensamente dilatados por intensa quantidade de macrófagos, macrófagos epitelioides (contendo ou não leveduras intracitoplasmáticas), células multinucleadas, mínima ou leve quantidade de neutrófilos e restos celulares, caracterizando drenagem das lesões cutâneas. Hiperplasia linfóide foi encontrada em todos os linfonodos, variando de discreta a acentuada. Em todos os linfonodos, nos quais foram encontradas leveduras (104/106; 98,11%), havia associação com sítios de drenagem de lesões, exceto em dois casos (2/106; 1,89%), onde a lesão ulcerativa na pele era localizada na região da cabeça e os linfonodos acometidos eram os poplíteos.

Em nove gatos, havia lesões nas conjuntivas palpebrais caracterizadas por degeneração epitelial discreta e infiltrado inflamatório discreto de linfócitos e plasmócitos. Por vezes, havia macrófagos no epitélio conjuntival e lâmina própria do epitélio, favorecendo o diagnóstico de conjuntivite linfo-histioplasmocitária. Em três gatos, a conjuntivite foi associada a leveduras intra-histiocitárias. Em um destes gatos, no olho esquerdo, constatou-se, além de conjuntivite, adenite da glândula lacrimal e blefarite histiocitária multifocal intensa da terceira pálpebra com inúmeras leveduras. Na malha trabecular do bulbo ocular, havia macrófagos com leveduras intracitoplasmáticas com ausência de outras células inflamatórias.

Leveduras também foram identificadas nos pulmões de alguns gatos (8/91). Macrófagos infectados foram visualizados no interior de alvéolos ou no interstício. Além disso, havia aumento de celularidade no interstício pulmonar devido ao infiltrado por plasmócitos, neutrófilos e macrófagos, sendo raros os casos com esse infiltrado intra-alveolar (3/91). Em nenhum dos casos constatou-se acometimento bronquial e bronquiolar ou hiperplasia do tecido

linfoide associado aos brônquios. Em um dos gatos constatou-se quantidade moderada com distribuição difusa nos alvéolos e interstício. Este animal recebeu tratamento com corticoides por 15 dias antes da morte.

No exame do encéfalo de 83 gatos, constatou-se infecção nas meninges em 19 (19,28%). Nestes encéfalos, macrófagos com leveduras no citoplasma foram visualizados no espaço subaracnóide. Além disso, havia hiperemia e marginação leucocitária. A meningite histiocitária foi classificada como multifocal leve, com variações de localização entre as regiões do encéfalo. No parênquima não foram encontradas lesões. Os achados histopatológicos nos órgãos estão compilados na Figura 9 e 10.

Em 11 gatos, foram constatadas lesões nas bolsas escrotais caracterizadas por áreas multifocais a coalescentes de ulcerações na pele. Subjacente a essas áreas, acometendo a túnica albugínea e vaginal, havia aumento acentuado de celularidade. O infiltrado era composto por restos celulares e células inflamatórias com predomínio de macrófagos epitelioides, plasmócitos, neutrófilos e macrófagos com intensa quantidade de leveduras intracitoplasmáticas ou extracelulares, possibilitando o diagnóstico de periorquite piogranulomatosa e necrosante. Não foram visualizadas leveduras ou infiltrado inflamatório nos túbulos seminíferos e epidídimo.

Na língua de três gatos (3/106) havia áreas multifocais de ulceração. Subjacente às úlceras havia agregados celulares constituídos predominantemente por macrófagos repletos de leveduras, plasmócitos e macrófagos epitelioides, com necrose tecidual e extensão para as fibras musculares. Esta lesão foi diagnosticada como glossite ulcerativa e granulomatosa.

Em relação aos demais órgãos, foram examinados fígado de 106 gatos, baço de 109, rim de 104, intestino de 95, coração de 89 e medula óssea de 35 gatos. Não foram identificadas leveduras de *Sporothrix* em nenhum desses órgãos.

3.5. Imuno-histoquímica

Nas peles dos gatos em que não houve visualização das leveduras na coloração de rotina (32/106; 30,19%) foi realizada IHQ para a confirmação do agente. Assim, em 26/32 casos foi visualizada marcação positiva (81,25%) para o *Sporothrix* spp., com quantidade discreta de leveduras (Figura 7). Nos gatos, cujas peles não foram imuno-marcadas (6/32), avaliou-se comparativamente o resultado da cultura fúngica e da PCR em cada um dos seis gatos. Destes, somente dois foram positivos por cultura e isolamento.

Nos cornetos nasais de gatos, cujas lesões eram sugestivas de esporotricose, mas sem identificação do fungo na coloração de rotina (16/45), a imunomarcação foi levemente positiva em nove gatos (Figura 7).

Linfonodos de gatos com linfadenite granulomatosa sugestiva de esporotricose e/ou linfadenite sinusoidal sem a visualização de leveduras na histopatologia também foram testados pela IHQ (43/87; 49,43%). Destes, 23/43 foram positivos (53,5%), sendo possível visualizar imunomarcção de leveduras em quantidade discreta.

Os pulmões de gatos que continham leveduras em quantidade intensa na pele, cornetos nasais e linfonodos (33/106), foram submetidos a IHQ. Em 27 (81,82%) pulmões detectou-se imunomarcção positiva (Figura 9). Em alguns, visualizou-se quantidade moderada de leveduras no interstício e no interior de alvéolos.

Em gatos com ausência da visualização de leveduras nas conjuntivas (6/9) por histopatologia, foi possível demonstrar, pela IHQ, quantidade discreta de leveduras em três gatos (Figura 9).

Tabela 2: Positividade para *Sporothrix* nas lesões cutâneas nos diferentes testes realizados.

Gatos com esporotricose confirmada (n= 102)		
Teste realizado	Número de positivos/número de amostras	% amostras positivas
Citopatologia	66/90	73,33%
Histopatologia	74/106	69,81%
IHQ	26/32	81,25%
*Cultura fúngica	62/74	83,78%

*Embora a proporção de positividade seja maior para a cultura e isolamento, há animais negativos na cultura e positivos por imuno-histoquímica (três gatos).

Tabela 3: Achados histopatológicos e imuno-histoquímicos nos diferentes tipos de infiltrado inflamatório da pele dos gatos com esporotricose.

Distribuição	Tipo de inflamação e intensidade	Presença da levedura	IHQ
Piogranulomatoso - 53/106(50%)			
Focal: 2/53	Discreto: 0/53	Discreto: 8/53	NR
Multifocal: 15/53	Moderado: 16/53	Moderado: 6/53	NR
Multifocal a coalescente: 32/53	Acentuado: 37/53	Acentuado: 15/53	NR
		Ausente: 24/53	21/24

Histiocitário e plasmocitário - 41/106 (35,85%)			
Focal: 2/41	Discreto: 4/41	Discreto: 2/41	NR
Multifocal: 2/41	Moderado: 1/41	Moderado: 9/41	NR
Multifocal a coalescente:	Acentuado: 1/41	Acentuado: 26/41	NR
Difuso: 0/41		Ausente: 4/41	2/4
Granulomatoso 12/106 (11,32%)			
Focal: 1/12	Discreto: 0/12	Discreto: 1/12	NR
Multifocal: 2/12	Moderado: 3/12	Moderado: 1/12	NR
Multifocal a coalescente:	Acentuado: 9/12	Acentuado: 2/12	NR
9/12		Ausente: 8/12	7/8

NR: não realizado, pois as leveduras foram identificadas na histopatologia.

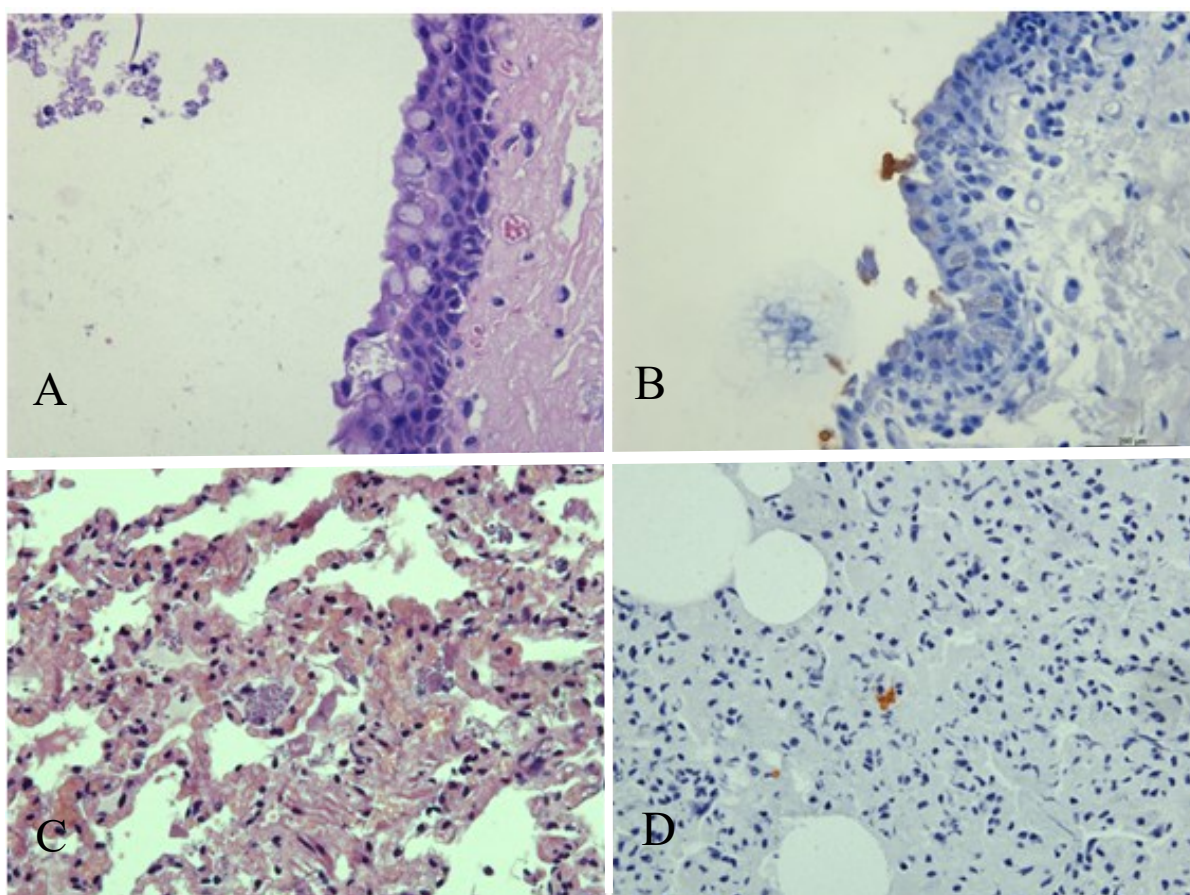


Figura 9: Lesões histológicas na conjuntiva palpebral e pulmão de gatos com esporotricose. A: Na conjuntiva há área focal com leveduras no epitélio (H.E.). Obj. 40. B: imunomarcção

positiva de conjuntiva palpebral para o *Sporothrix* spp. Imuno-histoquímica. DAB. Obj. 40. C: pulmão com espessamento do interstício alveolar por infiltrado histiocitário com leveduras no citoplasma. Obj. 40. D: marcação positiva discreta das leveduras no pulmão. Imuno-histoquímica. Contra coloração por hematoxilina. DAB. Obj. 40.

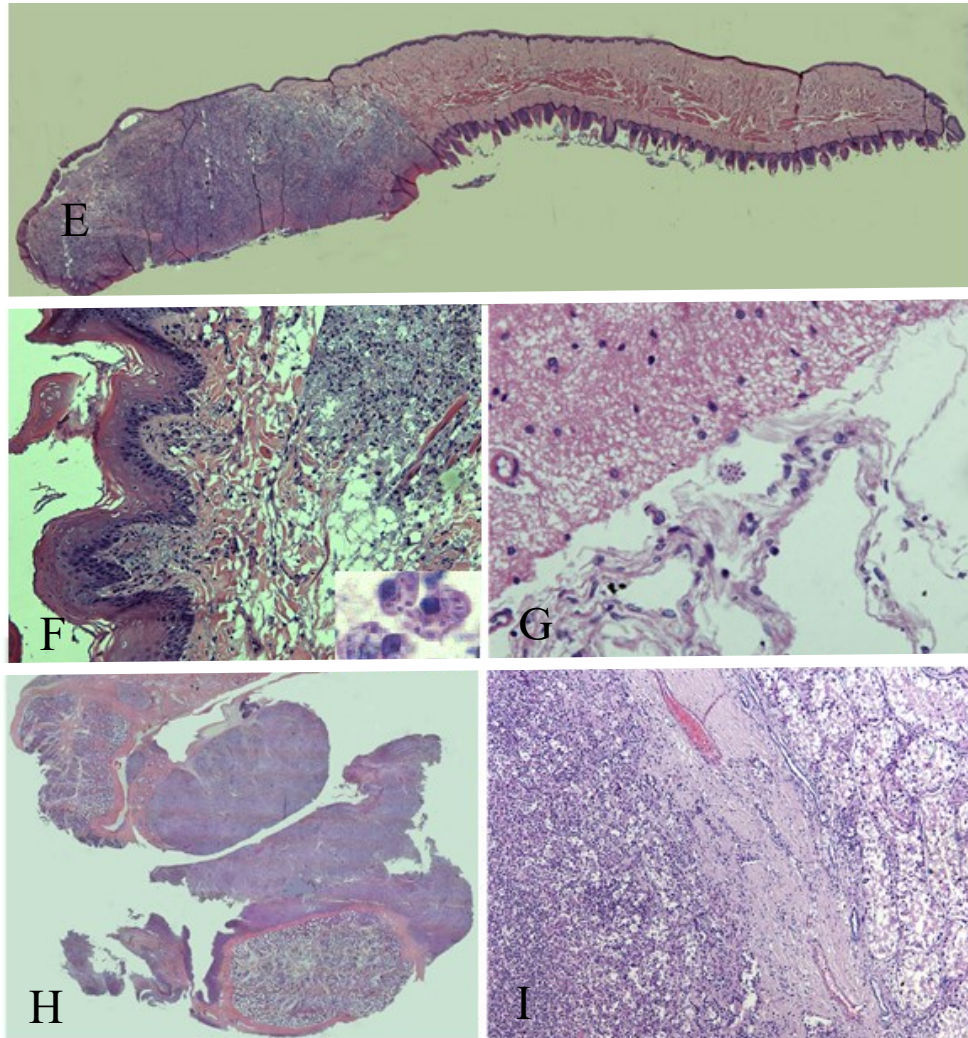


Figura 10: Lesões histológicas na língua, meninge e testículo de gatos com esporotricose. E: imagem submacroscópica de língua com lesão ulcerativa granulomatosa focalmente extensa (H.E.); F: imagem aproximada da língua com infiltrado inflamatório e leveduras (detalhe) subepitelial e entre as fibras musculares (H.E.). Obj.20. G: Cérebro contendo no espaço subaracnoide macrófagos com leveduras intracitoplasmáticas. (H.E.). Obj. 40. H: imagem submacroscópica dos testículos e túnica albugínea com intenso aumento de tamanho e perda da arquitetura das túnicas por infiltrado inflamatório e necrose, sem comprometimento dos túbulos seminíferos (H.E.). I: maior aumento da figura anterior. Túnica vaginal com infiltrado intenso de macrófagos com leveduras intracitoplasmáticas e necrose (H.E.). Obj. 4.

3.6. Sequenciamento

O alinhamento da sequência obtida (710 pb) para o gene da Calmodulina mostrou identidade genética com a espécie *Sporothrix brasiliensis* na amostra do gato analisado.

4. Discussão

No presente estudo foi possível relatar e identificar diferentes localizações extracutâneas da esporotricose felina. Além disso, obteve-se melhor esclarecimento sobre os resultados dos diferentes testes que podem ser utilizados para o diagnóstico da doença.

A maior ocorrência da esporotricose tem sido relatada em machos e se deve ao fato da maior probabilidade destes se envolverem em brigas por territórios ou por fêmeas, além do maior acesso ao ambiente extradomiciliar (Gross et al., 2009; Schubach, 2012). Neste estudo, 70% dos gatos acometidos eram machos, corroborando com estudos prévios.

Em todos os gatos do presente estudo o escore corporal era baixo (2/5). O estado corporal não adequado pode ser relacionado ao fato da maioria desses animais ser errantes ou semi-domiciliados e sem o devido acesso a alimentação. Contudo, a localização e a quantidade das lesões ulcerativas da doença, além de dor, podem gerar diminuição do apetite ou disfagia nos mesmos (OIE, 2017). Possivelmente, a dificuldade na alimentação foi particularmente um sinal nos gatos com glossite por esporotricose nesse estudo.

Com relação às lesões cutâneas, a forma cutânea disseminada foi a forma mais frequente nos gatos desse estudo, embora também tenha sido frequente a forma com lesão única, diferente de outros autores que consideram esta forma menos comum (Barros et al., 2001). As regiões da pele mais acometidas por lesões de esporotricose em gatos são a cabeça, na região do plano nasal e periocular (Schubach et al., 2012), membros torácicos e pélvicos e cauda (Antunes et al., 2009, Gross et al., 2009, Schubach et al., 2012), as quais também foram as regiões mais acometidas nos gatos deste estudo. Acredita-se que esses locais geralmente são os mais acometidos por serem mais expostos durante disputas territoriais e brigas, possibilitando a inoculação traumática (Rosser e Dunstan, 2006). Essa transmissão pode ocorrer por arranhaduras, pois acredita-se que seja devido a retratilidade das unhas desses animais, que podem reter o fungo nesse local. Além disso, pode ocorrer por mordeduras devido ao hábito de se lamberem para se limpar, podendo contaminar a cavidade oral com os esporos presentes nas secreções das lesões ulcerativas (Schubach et al., 2008; Barros et al., 2011).

Com relação ao caráter inflamatório das lesões cutâneas e a associação com as leveduras, alguns destaques são importantes. O infiltrado piogranulomatoso associado a numerosas leveduras e considerado clássico para a doença (Ginn et al., 2007), foi identificado em 50% dos nossos animais. Em somente 11,32% dos gatos, o infiltrado era granulomatoso, na maioria destes com quantidade discreta de leveduras e com necessidade de IHQ para a confirmação. O outro padrão inflamatório (35,85%) era constituído predominantemente por

macrófagos e plasmócitos, com ausência de macrófagos epitelioides e na maioria com numerosas leveduras. Esse achado contribui com um estudo anterior (Bazzi et al., 2016), o qual relatou macrófagos epitelioides nas lesões associado a uma carga fúngica mais baixa. O perfil histopatológico de lesões cutâneas na esporotricose, em gatos, foi estudada por Miranda et al. (2013). Neste estudo, os autores relataram haver relação entre infiltrado inflamatório com granulomas bem formados e baixa quantidade de leveduras. No presente estudo, granulomas bem formados foram observados apenas em 15 gatos, e quantidade baixa de leveduras foi observada somente em cinco destes gatos; portanto, não apresentando a mesma relação.

Há duas hipóteses para a diminuição da quantidade de leveduras nas lesões: terapia antifúngica ou devido a resposta inflamatória e imunológica do hospedeiro. O estudo de Bazzi et al., (2016) em gatos naturalmente infectados demonstrou lesões com quantidade mínima de leveduras em gatos tratados e não tratados para esporotricose, embora o número amostral tenha sido insuficiente para conclusões definitivas. No presente estudo, constatou-se quantidade baixa de leveduras nos diferentes padrões de lesões inflamatórias, não havendo relação com a terapia, pois a maioria destes gatos não receberam tratamento para esporotricose.

Outro destaque importante é a presença de neutrófilos na lesão, descrito como importante fator na resposta imunológica contra o *Sporothrix* spp. (Nobre et al., 2001). Em nosso estudo, a maioria dos gatos com neutrófilos nas lesões cutâneas (independente do infiltrado predominante), continham numerosas leveduras intralesionais, aparentemente não havendo relação direta entre presença de neutrófilos e diminuição da carga fúngica.

Um estudo anterior mostrou relação entre a ocorrência de um número maior de lesões cutâneas com alta carga fúngica nas mesmas (Miranda et al., 2013). Nos gatos do presente estudo, a carga fúngica alta foi identificada em 46,51% dos gatos com lesões cutâneas múltiplas, enquanto nos gatos com lesões únicas a frequência foi de 37,5%.

Lesões principalmente na pele da bolsa escrotal podem ter sido ocasionadas por lambeduras na região, e nos faz questionar se o alto número de animais com lesões múltiplas (96/106) foi causado por auto-disseminação, como já foi descrito previamente (Miranda et al., 2013; Gross et al., 2009; Schubach, 2012). Contudo, em alguns animais era possível identificar locais com lesões recentes no dorso com distribuição múltipla e aparência de trauma causado por dentes.

Os órgãos linfoides, em sua maioria, estavam intensamente hiperplásicos (linfadenomegalia generalizada e esplenomegalia por hiperplasia da polpa branca), possivelmente pela intensa estimulação antigênica devido a infecção pelo *Sporothrix* spp. A importância da imunidade humoral contra fungos ainda não foi totalmente esclarecida, mas anticorpos podem exercer um pequeno papel na prevenção da aderência, neutralização de toxinas e opsonização do fungo (Polonelli et al., 2000). Contudo, alguns estudos mostraram a importância das citocinas produzidas pelas células T CD4+, que atraem macrófagos para a lesão com redução da carga fúngica (Kienzle et al., 2005; Miranda et al. 2018).

Apenas linfonodos superficiais foram acometidos nos gatos do presente estudo. O acometimento dos linfonodos com lesões de esporotricose foram estabelecidos em 57/106 gatos. Estes possuíam pelo menos um dos linfonodos superficiais com leveduras nos seios linfáticos, mostrando a importância da drenagem linfática na patogênese da esporotricose, seja no estabelecimento da doença, fazendo com que ocorra com mais frequência a forma linfocutânea, como também para a resolução da mesma, já que a circulação linfática é responsável, entre outros, pela remoção de restos celulares e patógenos (Gartner e Hiatt, 2007).

Os achados histopatológicos mais comuns nestes linfonodos foram linfadenite histiocitária sinusoidal e hiperplasia linfoide e/ou infiltrado acentuado por macrófagos com numerosas leveduras, principalmente na região subcapsular, similar a outros estudos (Schubach et al., 2003; Pacheco et al., 2014). No presente estudo, linfadenite granulomatosa com predomínio de macrófagos epitelioides foi frequente, apesar de pouco documentada na literatura.

Em relação aos cornetos nasais, rinite/rinossinusite intensa por esporotricose foram achados frequentes. Similar ao presente estudo, Gremião et al. (2015) diagnosticaram 33 casos de rinite piogranulomatosa com ulcerações na mucosa e/ou epitélio respiratório. Contudo, em alguns casos, as lesões se estendiam para a cartilagem hialina e tecido ósseo do corneto. Peaston (1993) relatou um caso de um gato com lesão nos cornetos supostamente por drenagem de lesão cutânea localizada na face e no plano nasal. Schubach et al. (2004) relataram alta frequência de gatos com sinais clínicos respiratórios supostamente devido a lesão na mucosa nasal; entretanto, não foram realizados estudos microscópicos dos tecidos respiratórios.

Pneumonia intersticial acompanhada de leveduras de *Sporothrix* spp. foi diagnosticada em 35 (38,5%) gatos deste estudo. Todos os animais com essa lesão apresentavam intensa carga fúngica na pele e 16 apresentavam também lesões de rinite/rinossinusite. Outros estudos em gatos com os mesmos achados histopatológicos nos pulmões sugeriram que a rota de entrada da levedura nesses casos seja por inalação, semelhante ao que ocorre em outros fungos que atingem este órgão (Schubach et al., 2003; Pacheco et al., 2014). Há também a possibilidade de chegada da levedura pela via sanguínea ou linfática como forma de infecção desse órgão, como observado em um estudo experimental em ratos com inoculação intranasal de leveduras de *S. schenkii*, no qual ocorreu alta frequência de lesões na mucosa nasal e sinais respiratórios (Sethi et al., 1966). Outro estudo experimental com inoculação subcutânea do fungo em gatos também identificou leveduras nos pulmões dos mesmos (Kier et al., 1979). Com relação a inalação de esporos (conídeos), esta possibilidade deve ser considerada devido ao ciclo de propagação do fungo e permanência de esporos em terra rica em matéria orgânica, como relatado em humanos (Chakrabarti et al., 2015). Vários gatos desse estudo viviam em regiões com acesso a áreas com solo e matéria orgânica vegetal.

Periorquite piogranulomatosa e necrosante causadas pelo *Sporothrix* spp. foi diagnosticada em 11 gatos do presente estudo. Apesar de não haver acometimento do parênquima testicular em nenhum dos testículos analisados, há estudos que isolaram a levedura

de testículos de gatos; contudo, apenas um deles apresentava lesão cutânea na bolsa escrotal (Madrid et al., 2012). Adicionalmente, outro estudo fez o isolamento fúngico em um testículo sem lesão macroscópica (Schubach et al., 2002). A principal hipótese para esses achados é a temperatura testicular mais baixa que a temperatura corporal, facilitando a multiplicação do fungo, como sugerem alguns estudos experimentais (Tachibana et al., 2001; Nobre et al., 2008; Madrid et al., 2010). Em nosso estudo, possivelmente ocorreu auto-inoculação por lambedura, como descrito por Schubach et al. (2003) e Leme et al. (2007).

A auto inoculação traumática possivelmente também ocorre na língua levando a glossite, como diagnosticada em gatos do presente estudo. Positividade acima de 40% no isolamento do *Sporothrix* spp. da cavidade oral foi obtida em gatos com esporotricose (Schubach et al., 2006, Madrid et al., 2010). Contudo, não há relatos prévios de glossites pelo *Sporothrix* spp.

Apesar de haver relatos sobre a presença do *Sporothrix schenckii* no SNC em gatos (Kier et al., 1979), ainda pouco se sabe sobre essa lesão e sua frequência. Em nosso estudo, meningite histiocitária com leveduras intracitoplasmáticas foram encontradas em 22,9% dos gatos, mas sem aprofundamento no parênquima e com intensidade leve. Possivelmente, lesões mais intensas não foram encontradas devido ao curso da doença, considerando que todos os gatos foram eutanasiados antes de progressão da doença para a morte.

Conjuntivite associada à esporotricose foi um achado menos frequente, similar ao relato por Silva et al. (2008). Contudo, a levedura já foi isolada de mucosas conjuntivais sem lesão em 41% de gatos com esporotricose (Madrid et al., 2012).

As lesões de disseminação extracutânea do *Sporothrix* spp. encontradas nos gatos do presente estudo, reforçam a possibilidade de outras vias de infecção e disseminação como por exemplo, a via sanguínea. O isolamento de leveduras em sangue periférico foi documentado em gatos com lesões cutâneas disseminadas (Schubach et al., 2002; Schubach et al., 2003) e em gatos com lesões cutâneas localizadas e em boa condição corporal (Schubach et al., 2002). Além disso, os resultados do presente estudo nos mostram que as lesões extracutâneas são mais frequentes ao comparar as informações existentes na literatura sobre essa doença em gatos.

A identificação da espécie de *Sporothrix* realizada em um gato do presente estudo, com a forma cutânea disseminada e envolvimento de órgãos internos, sugere que *Sporothrix brasiliensis* seja a espécie presente nas infecções micóticas cutâneas e extracutâneas nos gatos examinados neste estudo e também, em Belo Horizonte. O *Sporothrix brasiliensis* é associado a alta virulência e a lesões cutâneas disseminadas em humanos (Almeida-Paes et al., 2014).

Os diferentes testes diagnósticos (citopatologia, histopatologia, imuno-histoquímica e cultura fúngica) utilizados nas lesões cutâneas dos gatos deste estudo mostraram alta sensibilidade. Um estudo realizado por Silva et al. (2018), também comparou diferentes métodos diagnósticos, no qual a coloração pelo GMS mostrou a maior sensibilidade. Entretanto,

em nosso estudo, quando a carga fúngica era muito discreta, melhores resultados foram obtidos com a imuno-histoquímica e PCR, comparado aos outros testes.

É importante ressaltar que 44,34% dos gatos desse estudo apresentaram carga fúngica baixa, apesar de apresentarem lesões cutâneas intensas, sendo necessária a utilização de IHQ ou cultura fúngica para o seu diagnóstico, levantando a questão sobre a possibilidade de uso de terapia antifúngica nesses gatos. Entretanto, as informações com relação ao tratamento prévio indicaram que a quase totalidade dos gatos não recebia tratamento antifúngico. Dessa forma, outros fatores (como por exemplo, a resposta imunológica do hospedeiro), devem ser investigados para esclarecer esses achados.

5. Conclusões

O presente estudo utilizou exames macroscópicos e complementares em 110 gatos com suspeita de esporotricose felina, com resultados detalhados sobre a distribuição das lesões extracutâneas, algumas ainda raramente estudadas e documentadas nesta espécie. Os achados extracutâneos mais comuns foram rinite/rinosinusite piogranulomatosa, linfadenite granulomatosa e histiocitária sinusoidal, além de meningite, pneumonia, periorquite, glossite e conjuntivite pelo *Sporothrix brasiliensis*. Destes achados, meningite e glossite ainda não haviam sido descritas em gatos. Além disso, a forma extracutânea foi frequente, a qual pode ser relacionada com alta patogenicidade desse fungo.

Os achados cutâneos foram similares a estudos realizados previamente, com caráter inflamatório de dermatite piogranulomatosa ou granulomatosa; com menor carga fúngica nas lesões que eram constituídas por numerosos macrófagos epitelioides.

A citopatologia e a histopatologia mostraram resultados eficientes no diagnóstico da doença, mas quando a carga fúngica da lesão é baixa são necessários testes adicionais como a imuno-histoquímica para evitar falsos negativos.

Mais estudos ainda são necessários para o esclarecimento das vias de disseminação das leveduras para os diferentes órgãos e tecidos e da resposta imunológica dos gatos no combate da levedura.

6. Referências Bibliográficas

- ALMEIDA-PAES, R.; DE OLIVEIRA, M.M.; FREITAS, D.F.; DO VALLE, A.C.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C. Sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: *Sporothrix brasiliensis* is associated with atypical clinical presentations. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 8(9): e3094, 2014.
- ANTUNES, T.A.; MEINERZ, A.R.M.; MARTINS, A.A.; MADRID, I.M. & NOBRE, M.O. Esporotricose, p.109-121. In: Meireles M.C.A. & Nascente P.S. (Orgs), *Micologia Veterinária*. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, 2009.
- BARROS, M.B.L.; DE ALMEIDA, P.R.; SCHUBACH, A.O. *Sporothrix schenckii* and sporotrichosis. *Clin. Microbiol. Rev.*, 24:633–654, 2011.
- BAZZI, T. et al. Clinical, epidemiological, histomorphological and histochemical characteristics of the feline sporotrichosis. *Pesq. Vet. Bras.*, 36.4: 303-311, 2016.
- CASADEVALL, A.; CASSONE, A.; BISTONI, F.; CUTLER, J.E.; MAGLIANI, W.; MURPHY, J.W.; POLONELLI, L.; ROMANI, L. Antibody and/or cell-mediated immunity, protective mechanisms in fungal disease: an ongoing dilemma or an unnecessary dispute. *Med. Mycol.*, v.36, n.1, p.95-105, 1998.
- CHAKRABARTI, A.; BONIFAZ, A.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; MOCHIZUKI, T.; LI, S. Global epidemiology of sporotrichosis. *Med. Mycol.*, 53(1):3-14, 2015.
- DA SILVA, D.T. et al. Esporotricose conjuntival felina. *Acta Sci. Vet.*, v.36, n.2, p.181-184, 2008.
- FADOK, V.A. Dermatologic manifestations of the subcutaneous deep mycoses. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 2:506–514, 1980.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Tratado de Histologia em cores*. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.279, 282-284, 289, 301, 305-307, 2007.
- GINN, P.E.; MANSELL, J.E.K.L. & RAKICH, P.M. Sporotrichosis, p.703-704. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C. & Palmer N. (Eds), *Pathology of Domestic Animals*. Vol.1. 5th ed. Elsevier, Philadelphia, 2007.
- GROSS, T.L.; IHRKE, P.J.; WALDER, E.J. & AFFOLTER, V.K. Esporotricose, p.289- 292. In: Ibid. (Eds), *Doenças de pele do cão e do gato*. 2ª ed. Roca, São Paulo, 2009.
- JUNGERMAN, P.F.; SCHWARTZMAN, R.M. Sporotrichosis. In: *Veterinary medical mycology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 31–39, 1972.
- KIER, A.B.; MANN, P.C.; WAGNER, J.E. Disseminated sporotrichosis in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 175:202–204, 1979.
- LACAZ, C.S. Esporotricose e outras Micoses Gomosas, p.479-487. In: Lacaz C.S., Porto E., Martins J.E.C., Heis-Vaccari E.M. & Takahashi de Melo N. (Eds), *Tratado de micologia médica* Lacaz. 9ª ed. Savier, São Paulo, 2002.

- LEME, L.R.P.; SCHUBACH, T.M.P.; SANTOS, I.B.; FIGUEIREDO, F.B.; PEREIRA, S.A.; REIS, R.S.; et al. Mycological evaluation of bronchoalveolar lavage in cats with respiratory signs from Rio de Janeiro, Brazil. *Mycoses*. 50:210–4, 2007.
- MADRID, I.M. et al. Epidemiological findings and laboratory evaluation of sporotrichosis: a description of 103 cases in cats and dogs in southern Brazil. *Mycopathologia*, v. 173, n. 4, p. 265-273, 2012.
- MADRID, I.M.; MATTEI, A.S.; XAVIER, M.O.; FERNANDES, C.G.; GUIM, T.N.; SANTIN, R., et al. Role of melanin in the pathogenesis of cutaneous sporotrichosis. *Microb. Infect.*, 12:162–5, 2010.
- MARQUES, S.A., FRANCO, S.R.V.S., CAMARGO, R.M.P., DIAS, L.D.F., HADDAD JÚNIOR, V. & FABRIS, V.E. Esporotricose do gato doméstico (*Felis catus*): transmissão humana. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 35(4):327-330, 1993.
- MEINKOTH, J.H.; COWELL, R.L.; TYLER, R.D.; MORTON, R.J. 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. p. 1-18, 2008.
- MIRANDA, L.H.M.; CONCEIÇÃO-SILVA, F.; QUINTELLA, L.P.; KURAIEM, B.P.; PEREIRA, S.A. & SCHUBACH, T.M.P. Feline sporotrichosis: histopathological profile of cutaneous lesions and their correlation with clinical presentation. *Microbiol. Infect. Dis.*, 36:425-432, 2013.
- NASCIMENTO, R.C.; ALMEIDA, S.R. Humoral immune response against soluble and fractionate antigens in experimental sporotrichosis. *Immunol. Med. Microbiol.*, v.43, p.241-247, 2005.
- NOBRE, M.O.; CASTRO, A.P.; CAETANO, D.; SOUZA, L.L.; MEIRELES, M.C.A.; FERREIRO, L. Recurrence of sporotrichosis in cats with zoonotic involvement. *Rev. Iberoam. Micol.*; 18:137–40, 2001.
- NOBRE, M.O.; MADRID, I.M.; ANTUNES, T.A.; MARTINS, A.A.; FERNANDES, C.G.; MATTEI, A.S., et al. Virulence differences between albino and pigmented *Sporothrix schenckii* isolates. *J. Mycol. Med.*, 8:191–7, 2008.
- O'DONNELL, K.; NIRENBERG, H.; AOKI, T.; CIGELNIK, E. A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience*. 41:61–78, 2000.
- OLIVEIRA, M.M.E.; ALMEIDA-PAES R.; MUNIZ, M.M.; BARROS, M.B.L.; GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M. Sporotrichosis caused by *Sporothrix globosa* in Rio de Janeiro, Brazil: case report. *Mycopathologia*, 169: 359–63, 2010.
- PEASTON, A. Sporotrichosis. *J. Vet. Intern. Med.*, 7, 44-45, 1993.

- QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.K., et al. The dimorphic fungi. In: Clinical veterinary microbiology. London: *Mosby Year Book Europe Ltd.* 402–408, 1994.
- ROMEO, O.; SCORDINO, F.; CRISEO, G. New insight into molecular phylogeny and epidemiology of *Sporothrix schenckii* species complex based on calmodulin-encoding gene analysis of Italian isolates. *Mycopathology*. Published online: 02 April 2011.
- ROSSER, E.J. & DUNSTAN, R.W. Sporotrichosis, p.608-612. In: Greene C.E. (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3rd ed. Elsevier, Philadelphia, 2006.
- SCHUBACH, A.; BARROS, M.B.; WANKE, B. Epidemic sporotrichosis. *Curr. Opin. Infect. Dis.*, 21:129 - 133, 2008.
- SCHUBACH, T.M.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.; BARROS, M.; FIGUEIREDO, F.B.; CUZZI, T.; et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). *JAVMA*. 224(10):1623–9, 2004.
- SCHUBACH, T.M.; SCHUBACH, A.; REIS, R.S.; CUZZI-MAYA, T.; BLANCO, T.C.M.; MONTEIRO, D.F. et al. *Sporothrix schenckii* isolated from domestic cats with and without sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Mycopathology*, 153:83–6, 2002.
- SCHUBACH, T.M.P.; MENEZES, R.C. & WANKE, B. Sporotrichosis, p.645- 650. In: Greene C.E. (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th ed. Elsevier, St Louis, 2012.
- SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.O.; OKAMOTO, T. et al. Hematogenous spread of *Sporothrix schenckii* in cats with natural acquired sporotrichosis. *J. Small Anim. Pract.*, 44:395–398, 2003.
- SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.; OKAMOTO, T.; BARROS, M.B.; FIGUEIREDO, F.F.; CUZZI-MAYA, T., et al. Canine sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical presentation, laboratory diagnosis and therapeutic response in 44 cases (1998–2003). *Med. Mycol.*, 44:87–92, 2006.
- SCHUBACH, T.M.P.; SCHUBACH, A.O.; CUZZI-MAIA, T.; OKAMOTO, T.; REIS, R.S.; FIALHO-MONTEIRO, P.C., et al. Pathology of sporotrichosis in 10 cats in Rio de Janeiro. *Vet. Rec.*, 152:172–5, 2003.
- SILVA, D.T.; PEREIRA, S.A.; GREMIÃO, I.D.F.; CHAVES, A.R.; CAVALCANTI, M.C.H.; SILVA, J.N., et al. Esporotricose conjuntival felina. *Acta Scient. Vet.*, 36(2):181–4, 2008.
- SILVA, J. N., et al. Comparison of the Sensitivity of Three Methods for the Early Diagnosis of Sporotrichosis in Cats. *J. Comp. Pathol.*, 160: 72-78, 2018.
- SOUZA, L.L.; NACENTE, P.S.; NOBRE, M.O.; MEINERZ, A.R.M. & MEIRELES, M.C.A. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of healthy cats. *Braz. J. Microbiol.*, 37:372-374, 2006.
- TACHIBANA, T.; MATSUYAMA, T.; ITO, M.; MITSUYAMA, M. *Sporothrix schenckii* thermo-intolerant mutants losing fatal visceral infectivity but retaining high cutaneous infectivity. *Med. Mycol.*, 39:295–8, 2001.

TÉLLEZ, M.D.; BATISTA-DUHARTE, A.; PORTUONDO, D.; QUINELLO, C.; BONNE-HERNÁNDEZ, R.; CARLOS, I.Z. *Sporothrix schenckii* complex biology: environment and fungal pathogenicity. *Microbiology*, v.160, n.11, p.2352-2365, 2014.

TOMAZI, T.; FRANCESCHIL, A.; SPANAMBERG, J.O.D.; BAZOTTI, M.S.; RAVAZZOLO, A.P.; SILVA, I.T.; DA COSTA, F.V.A.; FERREIRO, L. Esporotricose óssea em gato causada por *Sporothrix brasiliensis*. *Acta Scient. Vet.*, v. 45, supl. 1, pub. 241, p.5, 2017.

WERNER, A.H.; WERNER, B.E. Feline sporotrichosis. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 15:1189–1197, 1993.