



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas

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

MAÍRA CRUZ DE HOLANDA CAVALCANTI

**ALTERAÇÕES ANATOMOPATOLÓGICAS NA
REGIÃO NASAL DE GATOS DOMÉSTICOS COM
ESPOROTRICOSE: lesões sem tratamento e lesões
refratárias.**

Rio de Janeiro

2010

DISSERTAÇÃO MPCDI – IPEC M.C.H.CAVALCANTI 2010

Alterações anatomopatológicas na região nasal de gatos domésticos com esporotricose: lesões sem tratamento e lesões refratárias.

MAÍRA CRUZ DE HOLANDA CAVALCANTI

Dissertação apresentada ao Curso de pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas para obtenção do grau de mestre em Ciências.

Orientador: Dr. Rodrigo Caldas Menezes
Co-orientador: Dra. Tânia Maria Valente Pacheco

Rio de Janeiro

2010

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

C376

Cavalcanti, Maíra Cruz de Holanda.

Alterações anatomopatológicas na região nasal de gatos domésticos com esporotricose : lesões sem tratamento e lesões refratárias / Maíra Cruz de Holanda Cavalcanti. – Rio de Janeiro, 2010.

xvii, 72 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2010.

Bibliografia: f. 56-62.

1. Esporotricose. 2. Histopatologia. 3. Gato. 4. Região nasal. 5. Esporotricose refratária. I. Título.

CDD 617.107

MAÍRA CRUZ DE HOLANDA CAVALCANTI

Alterações anatomopatológicas na região nasal de gatos domésticos com esporotricose: lesões sem tratamento e lesões refratárias.

Dissertação apresentada ao Curso de pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas para obtenção do grau de mestre em Ciências.

Orientadores: Dr. Rodrigo Caldas Menezes

Dra. Tânia Maria Valente Pacheco

Aprovada em: 25/ 02/2010

BANCA EXAMINADORA

Dra. Monica Bastos de Lima Barros
IPEC/FIOCRUZ

Dra. Cintia de Moraes Borba
IOC/FIOCRUZ

Dr. Rogerio Tortelly
Faculdade de Medicina Veterinária/UFF

Dr. Fabiano Borges Figueiredo
IPEC/FIOCRUZ

Aos meus pais e às minhas irmãs.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Dr. Rodrigo Caldas Menezes e Dra. Tânia Maria Valente Pacheco pela oportunidade, credibilidade e pelos valiosos ensinamentos.

À Dra. Monica Bastos de Lima Barros por suas importantes contribuições durante o desenvolvimento deste estudo e pela receptividade.

À Raquel de Vasconcelos Carvalhaes Oliveira pela avaliação estatística do projeto.

Ao Dr. Armando de Oliveira Schubach por sua generosidade e pela atenção prestada.

À equipe do Serviço de Anatomia Patológica/IPEC: Antonio Carlos da Silva, Antonio Correa, Francisco das Chagas de Carvalho Rodrigues, Dr. Leonardo Pereira Quintella, Marcos Francisco Lucas de Almeida e Maria Dulce Portugal Estrada Espinoza pelo suporte técnico irrestrito e pelo agradável ambiente de trabalho.

Ao Dr. Bodo Wanke, Rosani Santos Reis e aos demais colaboradores do Laboratório de Micologia/IPEC pelo suporte técnico na realização do diagnóstico micológico, etapa primordial neste projeto e pelas contribuições.

Aos amigos do Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos/IPEC: Fabiano Borges Figueiredo, Isabella Dib Ferreira Gremião e Sandro Antonio Pereira por toda a colaboração prática e intelectual ao longo do desenvolvimento deste trabalho e pela amizade. Às amigas: Adriana da Roza Chaves, Aline Moreira Rodrigues, Carla de Oliveira Honse, Denise Torres Silva, Luisa Monteiro de Miranda e Roseli Lopes pelo carinho e por todo o auxílio. Assim como, aos demais colegas de laboratório que compõem essa grande família. Obrigada a todos pelo extraordinário convívio e por todo o aprendizado.

À querida Andréia Dantas Medeiros pelo carinho, incentivo e pela profunda amizade.

À minha amiga Marcela Soares (*in memoriam*), com quem pude partilhar muitos momentos importantes da minha vida.

Às amigas do mestrado Luciana Casartelli Alves, Regiane Vicente e Thalita Braga pelo grande carinho e pelos momentos intensos de estudo. Nossa amizade foi realmente um presente.

À equipe que compõe a coordenação de ensino do IPEC, pela atenção prestada e pela dedicação ao curso de pós-graduação.

Aos proprietários dos animais por permitirem sua participação no presente estudo e pela compreensão da importância da pesquisa.

Aos meus pais e às minhas irmãs, a minha mais profunda gratidão pela presença em todos os momentos da minha vida. Vocês fazem parte de cada conquista. Ao Fabricio, amigo e companheiro em todos os momentos.

Aos amigos queridos pelo incentivo e pela confiança.

A CAPES pelo financiamento do projeto.

Aos meus cães e aos demais animais, aos quais toda a dedicação é uma recompensa muito gratificante.

Cavalcanti, M. C. H. **Alterações anatomopatológicas na região nasal de gatos domésticos com esporotricose: lesões sem tratamento e lesões refratárias.** Rio de Janeiro, 2010. 72 f. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

RESUMO

A esporotricose é uma enfermidade causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix schenckii*. Gatos com esporotricose geralmente apresentam lesões cutâneas ricas em estruturas leveduriformes, encontradas com maior frequência na cabeça. Verifica-se que em alguns casos, as lesões podem ser refratárias ao tratamento, principalmente quando localizadas na região nasal. Este estudo teve por objetivo descrever as alterações anatomopatológicas na região nasal de gatos com esporotricose que não receberam tratamento antifúngico e de gatos com lesões refratárias. Utilizou-se uma amostra de conveniência composta por 50 gatos com diagnóstico micológico de esporotricose que apresentavam lesões na região nasal, atendidos no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) entre os anos de 2007 e 2009. Destes, 27 não receberam tratamento e 23 foram tratados com itraconazol isoladamente ou associado à anfotericina B. Foi coletado um fragmento de lesão nasal por biópsia ou toda a região nasal nos gatos submetidos à necropsia. As amostras de tecido foram processadas pelas técnicas de hematoxilina-eosina, de ácido periódico de Schiff e de impregnação pela prata de Grocott. Os casos, independentemente do tratamento, apresentaram predomínio de acentuado infiltrado inflamatório e semelhança quanto aos tipos de células inflamatórias envolvidas. Intensidade acentuada de estruturas leveduriformes de *S. schenckii* foi predominante com brotamentos frequentes, inclusive em lesões refratárias, o que demonstra a falha dos agentes antifúngicos. A frequência de granulomas bem organizados foi maior nos casos refratários, que apresentaram menor intensidade de infecção. Elementos fúngicos intracelulares estiveram presentes em macrófagos, neutrófilos, células gigantes e osteoclastos. Houve diferença estatisticamente significativa entre a presença de hifas e os casos refratários (30,4%) ($p=0,019$). A profundidade e a gravidade das lesões associadas a *S. schenckii* na região nasal dos gatos avaliados, sugerem a elevada virulência do fungo. O tratamento antifúngico no presente estudo não impediu a gravidade das lesões e a presença de elementos fúngicos na região nasal dos gatos avaliados.

Palavras-chave: 1. Esporotricose. 2. Histopatologia. 3. Gato. 4. Região nasal. 5. Esporotricose refratária.

ABSTRACT

Sporotrichosis is a disease caused by the dimorphic fungus *Sporothrix schenckii*. Cats with sporotrichosis usually have skin lesions rich in yeast forms, found more frequently on the head. In some cases, the lesions may be refractory to treatment, especially when located in the nasal region. This study aimed to describe the pathological changes in the nasal region of cats with sporotrichosis that did not receive antifungal treatment and cats with refractory lesions. We used a convenience sample consisting of 50 cats with mycological diagnosis of sporotrichosis that had lesions in the nasal region, examined at Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) between the years 2007 and 2009. Of these, 27 did not receive treatment and 23 were treated with itraconazole alone or in combination with amphotericin B. A fragment of nasal lesion by biopsy or the entire nasal region in cats subjected to necropsy was collected. Tissue samples were processed by the techniques of hematoxylin-eosin, periodic acid-Schiff and Grocott silver impregnation. Cases, regardless of treatment, showed a predominance of high inflammatory infiltrate and similarity in the types of inflammatory cells involved. Higher intensity of the yeast cells of *S. schenckii* was predominant with frequent budding forms, including refractory lesions, which demonstrates the failure of antifungal agents. The frequency of well organized granulomas was higher in refractory cases, which had lower intensity of infection. Intracellular fungal elements were present in macrophages, neutrophils, giant cells and osteoclasts. There was a significant statistical difference between the presence of hyphae and refractory cases (30.4%) ($p = 0.019$). The depth and severity of injuries associated with *S. schenckii* in the nasal region of cats evaluated, demonstrated the high virulence of the fungus. The antifungal treatment in this study did not prevent the severity of lesions and the presence of fungal elements in the nasal region of cats evaluated.

Keywords: 1. Sporotrichosis. 2. Histopathology. 3. Cat. 4. Nasal region. 5. Refractory sporotrichosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Gatos domésticos com esporotricose. A) Gato sem tratamento antifúngico com extensa tumoração ulcerada na região nasal. B) Gato sem tratamento antifúngico. Ulceração extensa e profunda na região nasal. C) Gato com esporotricose refratária. Nódulo (seta) na ponte nasal. D) Gato sem tratamento antifúngico. Lesão parcialmente oclusiva em mucosa nasal (seta azul) e lesão ulcerada recoberta por crosta em plano nasal (seta amarela). 28
- Figura 2 – Esporotricose felina. Região nasal. A) Caso refratário. Lesão piogranulomatosa rica em estruturas leveduriformes fagocitadas por macrófagos na derme superficial (seta). HE (objetiva 40x). B) Caso refratário. Miosite crônica e degeneração de fibras musculares esqueléticas subjacentes ao tecido subcutâneo e presença de estruturas leveduriformes. PAS (objetiva 10x). C) Caso refratário. Granuloma bem organizado supurativo e infiltrado piogranulomatoso na derme profunda. PAS (objetiva 40x). D) Caso refratário. Fibrose limitada por tecido conjuntivo e células mononucleares. HE (objetiva 40x). 38
- Figura 3 – Esporotricose felina. Região nasal. A) Caso sem tratamento. Mucosa do vestíbulo. Destruição de cartilagem hialina e presença de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii*. PAS (objetiva 40x). B) Caso refratário. Mucosa do vestíbulo. Lâmina própria espessada (lado direito) e normal (lado esquerdo) com acentuado infiltrado inflamatório e destruição de glândulas mistas. HE (objetiva 10x). C) Caso sem tratamento. Mucosa do vestíbulo. Espessamento da lâmina própria com intensidade acentuada de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* (seta azul). Glândulas mistas (seta amarela). Cartilagem hialina (seta preta). PAS (objetiva 20x). D) Caso sem 42

tratamento. Mucosa respiratória (M). Lise de tecido ósseo (seta azul) e intensidade acentuada de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii*. PAS (objetiva 10x). E) Caso refratário. Tecido ósseo da região nasal. Osteomielite. PAS (objetiva 10x). F) Caso sem tratamento. Tecido ósseo da região nasal. Abundantes estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* em medula óssea. PAS (objetiva 10x).

Figura 4 – Esporotricose felina. Região nasal. A) Caso sem tratamento. Derme nasal. Estruturas leveduriformes arredondadas com unibrotamentos (ponta de seta vermelha) e em forma de charuto (ponta de seta azul) sugestivas de *S. schenckii*. Impregnação pela prata de Grocott (objetiva 100x). B) Caso sem tratamento. Derme nasal. Formas atípicas de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* com múltiplos brotamentos (ao centro). Impregnação pela prata de Grocott (objetiva 100x). C) Caso refratário. Forma atípica de estrutura leveduriforme sugestiva de *S. schenckii* de grande tamanho no centro de um microabscesso em derme nasal (seta). PAS (objetiva 100x). D) Caso refratário. Hifa septada (seta vermelha) e estruturas leveduriformes arredondadas com unibrotamentos (seta azul) e em forma de charuto sugestivas de *S. schenckii* em derme nasal. Impregnação pela prata de Grocott (objetiva 100x). 44

Figura 5 – Esporotricose felina. Região nasal. A) Caso sem tratamento. Estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* com unibrotamento, fagocitadas por macrófagos na derme profunda (seta). PAS (objetiva 100x). B) Caso refratário. Estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* com unibrotamento, fagocitadas por células gigantes (seta). PAS (objetiva 100x). C) Caso refratário. Estrutura leveduriforme arredondada no centro de granuloma bem organizado supurativo na derme profunda (seta). PAS (objetiva 100x). D) Caso sem tratamento. Estruturas leveduriformes sugestivas 46

de *S. schenckii* com unibrotamento, fagocitadas por osteoclasto em tecido ósseo (seta). PAS (objetiva 100x).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Avaliação clínica de oito gatos com esporotricose nasal refratária (grupo II) em tratamento com itraconazol isoladamente ou associado à aplicação de anfotericina B.	29
Tabela 2 -	Extensão das lesões com presença de estruturas leveduriformes do fungo <i>S. schenckii</i> em pele, tecido subcutâneo e musculatura estriada esquelética subjacente na região nasal de 50 gatos pertencentes aos grupos I e II.	30
Tabela 3 -	Frequências dos tipos de granulomas, da diferenciação predominante das células do SFM no infiltrado granulomatoso e das intensidades do infiltrado inflamatório na derme de gatos com esporotricose sem tratamento antifúngico prévio (grupo I) e de gatos com esporotricose apresentando lesões refratárias (grupo II).	32
Tabela 4 -	Intensidade de cada tipo de célula inflamatória presente no infiltrado granulomatoso da derme da região nasal, relacionada ao tipo predominante de diferenciação de fagócitos no granuloma nos gatos com esporotricose sem tratamento antifúngico prévio (grupo I) e nos gatos com esporotricose apresentando lesões refratárias (grupo II).	34
Tabela 5 -	Intensidade de cada tipo de célula inflamatória presente no infiltrado granulomatoso da derme da região nasal, relacionada ao tipo predominante de diferenciação de fagócitos no granuloma nos gatos com esporotricose nasal refratária (grupo II) em tratamento com itraconazol isoladamente ou por combinação deste com aplicação de anfotericina B.	36
Tabela 6 -	Outras alterações histológicas presentes na pele da região nasal de gatos com esporotricose sem tratamento (grupo I) e em gatos com esporotricose refratária (grupo II).	37
Tabela 7 -	Extensão das lesões com presença de estruturas leveduriformes do fungo <i>S. schenckii</i> em cartilagem hialina, mucosa do vestíbulo, mucosa respiratória, mucosa das conchas nasais e tecido ósseo da região nasal dos 23 gatos necropsiados pertencentes aos grupos I e II.	39

Tabela 8 -	Frequência das alterações histológicas presentes em mucosa nasal de gatos com esporotricose necropsiados sem tratamento (grupo I) e de gatos com esporotricose refratária (grupo II).	40
Tabela 9 -	Intensidades, formas e localização das estruturas fúngicas em tecidos da região nasal de gatos com esporotricose sem tratamento (grupo I) e em gatos com esporotricose refratária (grupo II).	47

LISTA DE ABREVIATURAS

BHI -	Infusão de cérebro e coração
FIOCRUZ -	Fundação Oswaldo Cruz
HE -	Hematoxilina-Eosina
IPEC -	Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas
LAPCLIN-DERMZOO -	Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos
PAS -	Ácido periódico de Schiff
SAP -	Serviço de Anatomia Patológica
SFM -	Sistema Fagocítico Mononuclear

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	ESPOROTRICOSE	1
1.2	AGENTE ETIOLÓGICO	2
1.3	HISTÓRICO	2
1.4	EPIDEMIOLOGIA DA ESPOROTRICOSE FELINA	4
1.5	IMPORTÂNCIA DA ESPOROTRICOSE FELINA EM SAÚDE PÚBLICA	5
1.6	ASPECTOS CLÍNICOS DA ESPOROTRICOSE FELINA	7
1.7	DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	9
1.8	ASPECTOS ANATÔMICOS E HISTOLÓGICOS DA REGIÃO NASAL FELINA	10
1.8.1	ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS OBSERVADAS NA ESPOROTRICOSE FELINA	12
1.9	TERAPÊUTICA	15
1.9.1	ESPOROTRICOSE REFRACTÁRIA AO TRATAMENTO ANTIFÚNGICO	16
2	JUSTIFICATIVA	17
3	OBJETIVOS	18
3.1	OBJETIVO GERAL	18
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
4	METODOLOGIA	19
4.1	DESENHO DE ESTUDO	19
4.2	CASUÍSTICA	19
4.2.1	AMOSTRA	19
4.2.2	RECRUTAMENTO DE INDIVÍDUOS	20
4.2.3	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	20
4.2.4	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	21
4.3	DESENVOLVIMENTO	21
4.3.1	OBTENÇÃO DE REGISTROS E DADOS	21
4.3.2	CONSENTIMENTO DE PROCEDIMENTOS	21

4.3.3	LOCAIS DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO	21
4.3.4	PROCEDIMENTOS CLÍNICOS	22
4.3.4.1	ATENDIMENTO CLÍNICO	22
4.3.4.1.1	DEFINIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS LESÕES NASAIS, SEGUNDO REY (2003)	22
4.3.4.2	COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS	23
4.3.4.3	EXAME HISTOPATOLÓGICO	24
4.3.4.3.1	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA POR HE	24
4.3.4.3.2	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA POR IMPREGNAÇÃO PELA PRATA DE GROCOTT E POR PAS	25
4.4	ASPECTOS ÉTICOS	26
4.5	ANÁLISE DOS DADOS	26
5	RESULTADOS	27
5.1	AVALIAÇÃO CLÍNICA	27
5.2	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA	30
5.2.1	PELE, TECIDO SUBCUTÂNEO E MUSCULATURA ESTRIADA ESQUELÉTICA SUBJACENTE	30
5.2.1.1	EXTENSÃO DAS LESÕES ASSOCIADAS AO FUNGO <i>S. SCHENCKII</i>	30
5.2.1.2	CARACTERIZAÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO E DESCRIÇÃO DAS LESÕES NA PELE NASAL	31
5.2.2	DEMAIS TECIDOS DA REGIÃO NASAL	39
5.2.2.1	EXTENSÃO DAS LESÕES ASSOCIADAS AO FUNGO <i>S. SCHENCKII</i>	39
5.2.2.2	DESCRIÇÃO DAS LESÕES	40
5.2.3	FREQUÊNCIA, MORFOLOGIA, INTENSIDADE E LOCALIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS LEVEDURIFORMES DE <i>S. SCHENCKII</i>	43
5.2.3.1	FREQUÊNCIA	43
5.2.3.2	MORFOLOGIA E INTENSIDADE DE INFECÇÃO	43
5.2.3.3	LOCALIZAÇÃO	45
6	DISCUSSÃO	48
7	CONCLUSÕES	55

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
APÊNDICES	63
APÊNDICE A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	64
APÊNDICE B- Ficha de avaliação histopatológica por HE	66
APÊNDICE C- Ficha de avaliação histopatológica por PAS e Grocott	67
APÊNDICE D- Questionário para preenchimento do banco de dados Epidata	69

1. INTRODUÇÃO

1.1 ESPOROTRICOSE

Esporotricose é uma micose geralmente limitada aos tecidos cutâneo e subcutâneo, que pode se manifestar na forma disseminada, causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix schenckii* (Barbee et al., 1977; Kauffman et al., 1999; Barros et al., 2001; Schubach et al., 2003; Schubach A et al., 2004). Apresenta um amplo espectro de formas clínicas (Rippon, 1988; Welsh, 2003), cuja evolução pode ocorrer de forma subaguda à crônica (Larsson et al., 1989).

A doença acomete diversas espécies de animais tais como: gatos, cães, equinos, ratos, camundongos, porcos, mulas, bovinos, camelos, galinhas, hamsters e chimpanzés (Welsh, 2003; Lopes-Bezerra et al., 2006), inclusive o homem (Rippon, 1988; Welsh, 2003). Sua distribuição geográfica é ampla, principalmente em áreas de climas temperado e tropical (Barbee et al., 1977; Rippon, 1988; Kauffman et al., 1999; Bustamante; Campos, 2004). A América Latina, os Estados Unidos e o Japão representam os países com a maioria dos casos publicados dessa micose (Conti- Diaz, 1989; Barros et al., 2004).

A esporotricose é reconhecida como a micose subcutânea mais comum na América Latina em humanos (Conti-Diaz, 1989), com ocorrência endêmica na América do Sul, onde o Brasil apresenta a maioria dos casos relatados (Lopes et al., 1999; Barros et al., 2004).

A transmissão clássica dessa micose ocorre por inoculação traumática de formas fúngicas viáveis presentes em material contaminado como espinhos e farpas (Rippon, 1988).

No Brasil, a esporotricose não apresenta sazonalidade e vem sendo considerada como uma antroponose emergente na região metropolitana do

estado do Rio de Janeiro (Barros et al., 2001; Schubach et al., 2003, 2004; Barros et al., 2004; Schubach et al., 2005b; Lopes-Bezerra et al., 2006).

1.2 AGENTE ETIOLÓGICO

Sporothrix schenckii é um fungo dimórfico, anamórfico, e alguns estudos sugerem a possibilidade de sua fase sexuada ser *Ophiostoma* sp. (Kirk et al., 2008). É um microrganismo saprófita geofílico, encontrado em vegetação, solo e matéria orgânica em decomposição (Dunstan et al., 1986a; Rippon, 1988; Davies; Troy, 1996) sob forma de micélio.

A fase filamentosa ocorre na natureza e pode ser obtida sob temperatura de 25°C em meio ágar Saboraud dextrose. Ao exame macroscópico, as colônias são brancas e membranosas, e escurecem em semanas. À microscopia, o micélio é representado por hifas ramificadas finas e septadas, que podem exibir suaves conidióforos com conídios em suas terminações, dispostos em arranjo de pétala de flor ou margarida.

Apresenta-se sob a forma de levedura em parasitismo. Essa fase pode ser observada no tecido do hospedeiro ou em meio Agar BHI (*Brain Heart Infusion-Agar*) a 37°C, como colônias úmidas e cremosas. As leveduras à microscopia são estruturas arredondadas ou ovais e em forma de charuto, que se reproduzem por brotamento (Werner et al., 1971; Rippon, 1988; Larsson et al., 1989; Kauffman et al., 1999; Schubach et al., 2003; Welsh, 2003; Schubach A et al., 2004).

1.3 HISTORICO

Benjamim Schenck relatou o primeiro caso humano de esporotricose no ano de 1898, em Baltimore nos Estados Unidos. A partir do isolamento do fungo, o gênero foi denominado como *Sporotrichum* (Schenck, 1898). Posteriormente, Hektoen e Perkins relataram o segundo caso dessa micose e classificaram o agente etiológico como *Sporothrix schenckii* no título do respectivo trabalho publicado em 1900 (Hektoen; Perkins, 1900). No entanto, a classificação só foi oficialmente adotada na década de 1960, por Carmichael, após verificar uma diferença na esporulação entre os gêneros *Sporotrichum* e *Sporothrix* (Carmichael, 1962).

O primeiro caso humano relatado na Europa ocorreu em 1903, na França, descritos por De Beurmann e Ramon (1903). No Brasil, a esporotricose humana foi descrita pela primeira vez em 1907 (Lutz; Splendore, 1907). Esses autores foram os primeiros a relatar a esporotricose animal, por isolamento do fungo da cavidade oral de ratos.

De Beurman et al. (1909) demonstraram experimentalmente que gatos apresentam susceptibilidade a essa micose. No entanto, a esporotricose naturalmente adquirida em gatos foi relatada por Singer e Municie (1952). No Brasil, o primeiro caso de esporotricose felina foi reportado quatro anos depois (Freitas et al., 1956).

A ocorrência de epidemias de esporotricose é rara e geralmente está relacionada a uma fonte de infecção em comum (Kauffman et al., 1999; Schubach A et al., 2004; Lopes-Bezerra et al., 2006). Na década de 1940 aconteceu a maior epidemia descrita, em que cerca de três mil mineradores em Witwatersrand, África do Sul, adoeceram após inoculação por farpas de madeira contaminados presentes nas minas (Brown et al., 1947). Outra importante epidemia ocorreu nos Estados Unidos, envolvendo 15 estados e 84 indivíduos, a partir de mudas de coníferas com musgo do *Sphagnum* contaminadas com *S. schenckii* (Dixon et al., 1991).

A série de oito casos felinos publicados por Freitas et al. (1965) no Brasil correspondeu a maior casuística até aquele momento no país.

Read e Sperling (1982) realizaram a descrição de cinco casos humanos expostos a um gato com esporotricose. Até a década de 1980, o maior surto relacionado à transmissão zoonótica envolveu sete casos humanos e cinco gatos (Dunstan et al., 1986a).

Davies e Troy (1996) realizaram a revisão de uma série de 48 casos felinos em 40 anos. No Rio de Janeiro, Brasil, *S. schenckii* foi isolado de um gato doméstico pela primeira vez em 1998 por Baroni et al. (1998). Desde esse período, o Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) vem acompanhando a ocorrência epidêmica dessa micose na região metropolitana do Rio de Janeiro, que é considerada a primeira epidemia associada à transmissão zoonótica na literatura mundial (Barros et al., 2008).

1.4 EPIDEMIOLOGIA DA ESPOROTRICOSE FELINA

A partir da década de 1980, o papel do gato doméstico na transmissão zoonótica da esporotricose começou a ser mais explorado (Read; Sperling, 1982; Reed et al., 1993; Davies; Troy, 1996).

Felinos domésticos exercem um papel epidemiológico importante na esporotricose. Gatos machos adultos não-castrados com acesso irrestrito à rua (Dunstan et al., 1986a; Davies; Troy, 1996; Schubach T et al., 2004) são os mais acometidos e envolvidos na dispersão do agente no ambiente (Schubach T et al., 2004; Barros et al., 2008).

O grande potencial zoonótico de gatos infectados foi demonstrado por meio do isolamento de *S. schenckii* de lesões de pele, de fragmentos de unhas, de material coletado das cavidades nasal e oral (Schubach et al., 2001, 2002). Adicionalmente, já foi verificado o isolamento em dez gatos clinicamente saudáveis que co-habitavam com doentes, e o posterior adoecimento em seis desses animais (Schubach T et al., 2004).

Na situação epidêmica que ocorre no Rio de Janeiro (Brasil), o gato é considerado a principal fonte de infecção para o homem e outros animais, por meio de mordedura, arranhadura ou ainda por contato com exsudato de lesões (Schubach T et al., 2004; Schubach et al., 2005a,b; Schubach et al., 2006; Barros et al., 2008).

A inalação de conídios é considerada uma forma de transmissão ocasional na esporotricose humana (Rippon, 1988). No entanto, acredita-se que a infecção por via respiratória seja importante na transmissão da doença entre os gatos (Schubach et al., 2003, 2004).

Felinos com esporotricose geralmente apresentam lesões cutâneas múltiplas ricas em estruturas leveduriformes do fungo, com frequente disseminação por via sanguínea, rara em outras espécies (Dunstan et al., 1986a; Welsh, 2003; Schubach et al., 2003, 2004).

1.5 IMPORTÂNCIA DA ESPOROTRICOSE FELINA EM SAÚDE PÚBLICA

Relatos de esporotricose geralmente são descritos por meio de casos isolados, pequenos surtos familiares ou profissionais (Schubach A et al., 2004; Lopes-Bezerra et al., 2006).

A esporotricose apresenta uma ocorrência endêmica no Brasil (Bustamante; Campos, 2004), ainda que não exista um sistema de notificação compulsória que permita um conhecimento mais preciso sobre a incidência dessa doença e sua real distribuição (Schubach et al., 2005b; Barros et al., 2008).

O número de casos atendidos pelo IPEC na região metropolitana do Rio de Janeiro (Brasil) vem aumentando progressivamente e correspondeu a um total de 759 casos humanos, 64 cães e 1503 gatos domésticos até o ano de 2004 (Schubach et al., 2005a, 2008). Nessa epidemia, o gato exerce importante papel na transmissão zoonótica, em que 83,4% dos pacientes humanos relataram contato com gatos doentes (Schubach A et al., 2004, 2005a,b, 2008).

A maioria das residências de pacientes tem sistema de saneamento básico e localiza-se no município do Rio de Janeiro (Barros et al., 2008).

Essa micose pode ser descrita como uma enfermidade de caráter ocupacional de profissionais cuja atividade está relacionada não somente à vegetação ou ao solo, mas também envolve tratadores de animais e profissionais de saúde (Barbee et al., 1977; Read; Sperling, 1982; Dunstan et al., 1986a; Larsson et al., 1989; Reed et al., 1993). Nesse contexto, o médico veterinário representa uma categoria de alto risco (Kwon-Chung; Bennet, 1992; Kauffman et al., 1999), com uma frequência de 5% em 178 pacientes com esporotricose avaliados por Barros et al. (2004).

Barros et al. (2008) identificaram que a prevalência de esporotricose foi quatro vezes maior em indivíduos envolvidos com os cuidados de animais doentes, demonstrando uma importante exposição à transmissão zoonótica na região metropolitana do Rio de Janeiro. Verificaram também que houve predomínio de casos em pessoas do sexo feminino com idade mediana de 41 anos, principalmente envolvidas em atividades domésticas.

A apresentação clínica da doença no homem pode ocorrer sob a forma de lesões linfangíticas, lesões cutâneas localizadas ou fixas, lesões cutâneas disseminadas, seja por autoinoculação seja por disseminação hematogena e lesões extracutâneas decorrentes de inalação, ingestão ou disseminação sanguínea, como pode ocorrer na mucosa nasal (Sampaio et al., 1954). Barros et al. (2003, 2004, 2008) verificaram que a forma clínica humana predominante nos casos oriundos do Rio de Janeiro foi a linfocutânea, seguida pelas formas localizada e disseminada cutânea.

Barros et al. (2003) descreveram 24 casos de disseminação cutânea em indivíduos imunocompetentes associados à transmissão zoonótica, que pode ter ocorrido em consequência de múltiplas inoculações, exposição prolongada ao fungo, autoinoculação ou até mesmo por disseminação hematogena.

A disseminação sanguínea é rara em humanos e ocorre principalmente em indivíduos imunocomprometidos (Rippon, 1988), como pacientes infectados pelo vírus HIV.

A reinfecção é rara, mas pode ocorrer em pacientes expostos a fatores de risco ambientais, mesmo em imunocompetentes (Shinogi et al., 2004).

Dunstan et al. (1986b) sugeriram que a via aérea também pode ser importante em indivíduos imunocomprometidos que convivam com animais

infectados, uma vez que estes podem liberar formas viáveis do fungo por exsudatos e pelas fezes.

Os aspectos das lesões cutâneas mais comumente observados são nódulos, tubérculos, pústulas, cistos, gomas, úlceras, lesões úlcero-vegetantes, lesões verrucosas e placas. Verificou-se uma maior frequência em membros superiores. Em apenas um paciente (n=178) foi observada a presença de lesões em mucosa nasal (Barros et al., 2004).

Alterações provocadas no meio ambiente e o aumento da população felina são fatores que podem estar relacionados com a epidemia no Rio de Janeiro. No entanto, a escassez de estudos ambientais e de censos animais não permite a precisão dessa associação (Barros et al., 2008).

Ações de profilaxia tornam-se necessárias para conter a situação epidêmica atual, que envolvam o controle populacional e de salubridade de felinos, mas também um tratamento mais eficaz. Assim como, o estímulo à posse responsável, à limitação no número de gatos por domicílio e a cremação de animais doentes que venham a óbito. Cuidados nas residências também devem ser adotados, além de programas de saúde pública que atendam às necessidades básicas da população e a promoção de ações educativas (Davies; Troy, 1996; Barros et al., 2004; Schubach T et al., 2004; Schubach et al., 2005b; Barros et al., 2008).

Ademais, profissionais e quaisquer indivíduos responsáveis por cuidados de animais devem utilizar luvas previamente à manipulação de animais suspeitos e ao término realizar antissepsia de mãos e antebraços com soluções antifúngicas e realizar desinfecção do local de procedimentos, como forma de profilaxia (Dunstan et al., 1986b; Welsh, 2003; Gremião et al., 2006).

O IPEC representa um centro de referência em esporotricose no Rio de Janeiro, que envolve pesquisa, diagnóstico clínico e laboratorial da esporotricose e fornecimento gratuito da medicação antifúngica prescrita.

1.6 ASPECTOS CLÍNICOS DA ESPOROTRICOSE FELINA

A esporotricose felina apresenta um amplo espectro clínico, que varia desde um quadro subclínico ou lesões localizadas, à doença disseminada sistêmica fatal (Schubach T et al., 2004). Os hábitos do gato podem facilitar a disseminação da doença, por autoinoculação (Barbee et al., 1977; Dunstan et al., 1986a), pelas incursões em áreas com material contaminado, por afiar unhas em árvores e pela obtenção de arranhaduras por brigas e brincadeiras (Larsson et al., 1989).

Inicialmente, as lesões cutâneas felinas são pápulo-nodulares, ulceram e drenam exsudato purulento levando à formação de crostas espessas, muitas vezes sem ocorrência de linfangite ou linfadenite regional. Extensas áreas de necrose podem se desenvolver com exposição de músculos e ossos (Schubach T et al., 2004).

A disseminação sistêmica geralmente é diagnosticada pela execução de exame *post-mortem* (Davies; Troy, 1996; Schubach et al., 2003). Davies e Troy (1996) verificaram disseminação cutânea e sistêmica para linfonodos, fígado, baço e pulmões em 38% dos animais infectados necropsiados. Enquanto, Barbee et al. (1977) observaram a ocorrência de disseminação sistêmica experimentalmente em 50% dos gatos avaliados, sem desenvolvimento de sinais sistêmicos.

As lesões cutâneas em gatos são mais frequentes na cabeça, especialmente no nariz. A distribuição de lesões ocorreu em um sítio (L1) em 33,9%, em dois sítios (L2) em 24,7% e em três ou mais sítios em 41,3% de 773 gatos doentes avaliados por Pereira et al. (2010). Achados similares aos observados por Schubach T et al. (2004) em 347 gatos.

No nariz, a doença acomete principalmente a ponte nasal. Adicionalmente, pode ocorrer comprometimento do plano nasal (Malik et al., 2004) e da mucosa nasal. Envolvimento da mucosa respiratória superior e da mucosa digestiva ocorreu em 34,9% dos casos avaliados (Schubach T et al., 2004). Pereira et al. (2010) verificaram sinais respiratórios em 41,5% (n=773) dos gatos com esporotricose. Espirros corresponderam aos sinais extracutâneos mais comuns. A frequência da presença de espirros na esporotricose felina variou de 36,8% (Schubach T et al., 2004) a 39,3% (Pereira et al., 2010), sendo associados à presença de lesão em região nasal (Schubach et al., 2003, 2004).

A frequente disseminação da doença, inclusive com envolvimento da mucosa do trato respiratório em gatos, não parece estar associada à imunodeficiência causada pelos vírus da imunodeficiência felina (FIV) e leucemia felina (FeLV), conforme relatos de Schubach T et al. (2004) e Pereira et al. (2010). Uma das principais alterações hematológicas e bioquímicas de gatos com múltiplas lesões cutâneas, além da anemia e hipoalbuminemia, é a ocorrência de leucocitose com neutrofilia e hipergamaglobulinemia. Este fato reforça a hipótese que a maior gravidade da doença em gatos não está associada à imunossupressão (Schubach T et al., 2004).

O isolamento de *S. schenckii* da cavidade nasal e do lavado broncoalveolar, a frequente presença de lesão em nariz e pulmões e a ocorrência de sinais respiratórios ressaltam a importância da via respiratória na dinâmica da doença (Schubach et al., 2008).

1.7 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Estruturas leveduriformes de *S. schenckii* podem ser visualizadas no exame citopatológico e histopatológico (Rippon, 1988; Kwon-Chung; Bennet, 1992). No entanto, a determinação do diagnóstico definitivo de esporotricose ocorre pelo isolamento do fungo em meio de cultura e seu estudo morfológico macroscópico e microscópico (Schubach et al., 2003; Welsh, 2003).

Para o isolamento do fungo *S. schenckii* em meio de cultivo, como padrão ouro para o diagnóstico dessa micose, o material biológico é obtido a partir do local da lesão por aspiração, por meio de *swab* ou por biópsia (Kauffman et al., 1999; Welsh, 2003; Schubach T et al., 2004). O dimorfismo térmico desse fungo é demonstrado por meio da conversão da fase filamentosa para a leveduriforme, que determina o diagnóstico. Entretanto, o crescimento fúngico pode ser inibido por

contaminação com outros microrganismos saprófitas ou por inadequação do material coletado.

Schubach T et al. (2004) verificaram o isolamento de *S. schenckii* de 98,1% biopsias de pele, 96,0% *swabs* de lesão cutânea, 70,5% *swabs* de cavidade nasal e 49,1% *swabs* de cavidade oral em gatos doentes.

O exame histopatológico é um método auxiliar na visualização de estruturas leveduriformes sugestivas, principalmente quando utilizadas técnicas especiais de coloração. Ademais, possibilita a avaliação de alterações teciduais associadas, permitindo o diagnóstico diferencial com outras enfermidades.

Os principais diagnósticos diferenciais da esporotricose felina são: pioderma bacteriano, micobacterioses, nocardiose, actinomicose, criptococose, histoplasmose, candidíase, corpo estranho, carcinoma, doença auto-imune, lupus eritematoso, pênfigo vulgar, alergia e erupção por medicamentos (Welsh, 2003).

Marques et al. (1992) concluíram que a imuno-histoquímica é uma técnica de diagnóstico mais sensível e específica em relação à histoquímica na esporotricose humana, para a detecção de estruturas fúngicas. A combinação de ambas as técnicas elevou a acurácia do exame.

1.8 ASPECTOS ANATÔMICOS E HISTOLÓGICOS DA REGIÃO NASAL FELINA

A região nasal felina apresenta áreas de pele, mucosa, tecido muscular, cartilagem hialina e tecido ósseo.

A ponte nasal (Malik et al., 2004; Gremião et al., 2009) ou região de pele pilosa do nariz corresponde a uma superfície externa, situada dorsalmente. É uma área constituída por epitélio estratificado queratinizado, com presença de folículos

pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas em seu tecido conjuntivo (Bacha Jr.; Bacha, 2003).

O plano nasal é a região localizada ao redor e entre as narinas, dividido parcialmente por um sulco mediano denominado filtro. Nos gatos, é uma região de coloração variável (White, 1994). Apresenta o mesmo tipo de epitélio da ponte, porém com maior espessamento e maior queratinização da epiderme, além da formação de pequenos tubérculos nessa região. Ao contrário da ponte nasal, não apresenta pêlos nem mesmo as glândulas supracitadas (Getty, 1986; Bacha Jr.; Bacha, 2003). Segundo Malik et al. (2004), o fungo *S. schenckii* acomete principalmente a ponte nasal, mas pode se estender lateralmente e ao plano nasal.

O músculo que compõe a região nasal é o levantador nasolabial, que se estende da região frontal entre as órbitas, inserindo-se no nariz e no lábio superior. Atua principalmente na ampliação do diâmetro nasal.

O nariz pertence ao esqueleto da face, cujo limite rostral é determinado pelo osso nasal e pelo incisivo. O limite caudal é representado por um plano transversal através dos olhos. Os ossos da face delimitam o nariz lateral e dorsalmente.

O septo nasal é uma estrutura que se estende do osso incisivo ao focinho, composto em parte por tecido ósseo (placa perpendicular do etmóide e do vômer) e por cartilagem hialina, cuja borda dorsal se estende para formar as cartilagens laterais dorsal e ventral. O septo divide a cavidade nasal em antímeros direito e esquerdo, seguindo a estrutura do teto ao piso do nariz.

A irrigação de narinas e adjacências é realizada pelas artérias nasais dorsal e lateral, artéria labial maxilar, artéria palatina maior, artéria esfenopalatina e artéria etmoidal. A drenagem é realizada pelas veias correspondentes. Os vasos linfáticos nessa área drenam para linfonodos mandibulares e parotídeos. Os nervos na região das narinas são derivados dos nervos infraorbitário e facial.

A túnica mucosa nasal apresenta três epitélios distintos: epitélio estratificado pavimentoso, epitélio olfatório e epitélio respiratório (Getty, 1986).

As fossas nasais constituem a porção condutora do aparelho respiratório, necessária para aquecimento, umidificação e purificação do ar na inspiração. Essa área é subdividida em: vestíbulo, área olfatória e respiratória. Os vestíbulos correspondem a duas cavidades mais anteriores nas fossas. Sua mucosa é

pigmentada e composta por epitélio pavimentoso estratificado não-queratinizado e por glândulas mistas em sua lâmina própria. A área respiratória apresenta epitélio pseudoestratificado cilíndrico ciliado com células caliciformes, glândulas mistas na sua lâmina própria e tecido ósseo em suas adjacências (Getty, 1986; Junqueira; Carneiro, 1999). Cartilagem hialina está presente no vestíbulo e na área respiratória.

Cada cavidade nasal é preenchida principalmente pelas conchas nasais ou ossos turbinados. Essas projeções ósseas são subdivididas em três regiões. As conchas dorsais estão projetadas para o osso frontal. A medial é mais curta e larga no gato, enquanto a ventral é uma grande estrutura. As conchas são compostas por pregas de túnica mucosa e as passagens de ar entre elas são denominadas de meatos. No gato, o meato dorsal é mais estreito e o médio é muito curto, sendo o meato ventral o maior. Estes últimos conduzem ao meato nasofaríngeo, comum às duas cavidades nasais. As conchas correspondem à saída da cavidade nasal para a nasofaringe.

A mucosa nasal é muito vascularizada. A irrigação é realizada pela artéria esfenopalatina, artéria etmoidal e artéria palatina maior, artérias nasais dorsal e lateral, artéria labial maxilar. A drenagem é proporcionada por veias correspondentes. Linfonodos mandibulares e retrofaríngeos estão envolvidos na drenagem linfática dessa área. Os nervos são originados do nervo olfatório e por ramos do nervo trigêmeo.

A região fúndica do nariz é amarelo-acinzentada e composta por epitélio do tipo olfatório. No gato, há glândulas tubuloalveolares de secreção mucosa nessa área (Getty, 1986).

Os seios paranasais são áreas ocas, localizadas dentro dos ossos da face. São áreas cheias de ar e recobertas por mucosa, comunicando-se com o nariz através de orifícios denominados óstios.

1.8.1 ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS OBSERVADAS NA ESPOROTRICOSE FELINA

O exame histopatológico auxilia no diagnóstico da esporotricose, com uma sensibilidade de 62,2% na detecção de estruturas leveduriformes em gatos domésticos (Welsh, 2003; Schubach T et al., 2004). Para caracterização morfológica dessas estruturas é recomendada a utilização de técnicas especiais, como impregnação pela prata de Grocott e o Ácido Periódico de Schiff (PAS) (Kwon-Chung; Bennet, 1992; Miranda et al., 2009). Miranda et al. (2009) verificaram uma sensibilidade de 41,9% pela prata de Grocott e 19,8% por PAS no diagnóstico da esporotricose canina.

A intensidade acentuada de estruturas leveduriformes na esporotricose felina é frequente, sendo considerada uma característica relevante ao exame histopatológico. No entanto, em alguns casos há poucas estruturas fúngicas.

A alta susceptibilidade do gato à esporotricose parece estar relacionada à reduzida formação de granulomas, à ausência de corpos asteróides e à presença frequente de muitas estruturas leveduriformes (Schubach T et al., 2004).

Na esporotricose, três formas de elementos fúngicos podem ser observadas ao exame microscópico: leveduras pleomórficas (formas arredondadas e em forma de charuto), corpos asteróides e hifas (Bickley et al., 1985). Brotamentos únicos de base estreita são achados comuns na superfície de estruturas leveduriformes, enquanto brotamentos múltiplos são raramente observados (Lurie, 1963; Hirsh; Johnson, 1984b; Dunstan et al., 1986a; Miranda et al., 2009).

Estruturas leveduriformes atípicas de *S. schenckii* podem ser encontradas em tecidos, como múltiplos brotamentos e outras com dimensões maiores do que o habitual. Hifas em tecidos podem ocorrer em resposta a condições locais de menor tensão de oxigênio e temperatura reduzida a cerca de 25°C (Lopes et al., 1992), o que é comum em regiões anatômicas mais superficiais e de extremidades como o nariz (Malik et al., 2004).

Na esporotricose felina, as principais alterações microscópicas observadas ao exame histopatológico consistem em um infiltrado inflamatório composto por células mononucleares e polimorfonucleares, predominantemente macrófagos e neutrófilos (Schubach T et al., 2004).

Em humanos e em camundongos, formas do fungo *S. schenckii* podem permanecer no interior de macrófagos após fagocitose, com ocorrência de proliferação. Esse fato sugere a incapacidade dessas células de eliminar o fungo, o

que poderia permitir sua viabilidade e a cronicidade do processo patológico (Hiruma et al., 1988, 1992; Lei et al., 1993). O mesmo processo poderia ocorrer em felinos.

A entrada de um agente infeccioso intracelular, como ocorre nas micoses, pode induzir a uma resposta inflamatória celular aguda, composta inicialmente por neutrófilos, linfócitos e macrófagos. A formação do granuloma ocorre em consequência da persistência e da concentração do agente causador da enfermidade, com o intuito de contê-lo e destruí-lo. Para tanto, esse fenômeno depende diretamente da diferenciação, maturação e agregação ordenada de células do sistema fagocítico mononuclear para formar um granuloma epitelióide organizado (Adams, 1976; Epstein, 1977; Hirsh; Johnson, 1984a).

A reação inflamatória granulomatosa já foi classificada quanto a aspectos morfológicos, imunológicos, etiológicos e patofisiológicos (Epstein, 1977). Hirsh e Johnson (1984a) subdividiram o tipo morfológico em cinco categorias: epitelióide, histiocítico, corpo estranho, necrobiótico e inflamação mista de acordo com o tipo celular e a reação predominantes. Classicamente, vários autores denominam essas formações como granulomas esporotricóticos e consideram sua presença importante e sugestiva na doença humana e canina (Lurie, 1963; Bickley et al., 1985; Miranda et al., 2009). Ademais, essas formações podem ser designadas como granulomas bem organizados, conforme a predominância de células epitelióides agregadas e bem delimitadas (Epstein, 1977; Hirsh; Johnson, 1984a; Miranda et al., 2009). No entanto, os granulomas mal organizados são mal delimitados e/ou com predomínio de macrófagos (Miranda et al., 2009).

Há uma correlação inversa entre a presença de granulomas e a visualização de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* no infiltrado inflamatório de felinos (Schubach T et al., 2004).

Os achados histopatológicos não são específicos da esporotricose, pois se assemelham a algumas outras micoses (Dunstan et al., 1986b; Welsh, 2003). Alguns dos diagnósticos diferenciais mais relevantes no acometimento da região naso-ocular em gatos são a criptococose e o carcinoma (Malik et al., 2004).

1.9 TERAPÊUTICA

Classicamente, os iodetos vêm sendo empregados no tratamento da esporotricose. Azólicos, fármacos da classe das alilaminas e macrolídeos poliênicos são opções terapêuticas na esporotricose felina (Pereira et al., 2009).

A limitada oferta de agentes antifúngicos na esporotricose felina, a dificuldade na contenção do animal e a quantidade de gatos presentes no domicílio podem representar obstáculos ao tratamento (Schubach T et al., 2004; Pereira et al., 2009). A doença em humanos imunocompetentes e em cães geralmente apresenta prognóstico mais favorável e com boa eficácia terapêutica. No entanto, a esporotricose felina tende a uma evolução grave, de ocorrência sistêmica e com baixa resposta terapêutica (Schubach T et al., 2004; Schubach et al., 2005a; Schubach et al., 2006; Pereira et al., 2010).

O tratamento da esporotricose felina mais realizado atualmente é a administração de antifúngicos azólicos, tais como itraconazol e cetoconazol, com doses recomendadas pela literatura de 5 a 10 mg/Kg a cada 12 ou 24 horas, por via oral (Welsh, 2003; Schubach T et al., 2004). Os animais podem responder favoravelmente ao tratamento regular e prolongado com tempo mediano de 36 semanas (variação de 16 a 80 semanas) (Schubach et al., 2004). Pereira et al. (2010) verificaram um tempo mediano menor de 28 semanas. Esses autores observaram cura clínica em 28,6% (n= 598) dos gatos tratados com 13,5 a 27,0 mg/kg/dia de cetoconazol e em 38,3% (n= 175) dos tratados com 8,3 a 27,7 mg/kg/dia de itraconazol, em que houve uma variação no limite superior da dose usualmente recomendada. O tratamento implementado com o primeiro fármaco gerou maior ocorrência de efeitos adversos gastrintestinais, todavia apresenta menor custo financeiro em comparação ao itraconazol.

O itraconazol é atualmente a droga de eleição devido à potente atividade antifúngica relacionada à maior seletividade para sistemas de citocromos do fungo, além de atingir uma boa concentração na pele e possuir poucos efeitos adversos quando comparados a outros antifúngicos (Welsh, 2003).

A associação de itraconazol com anfotericina B constitui uma alternativa terapêutica na esporotricose felina refratária ao itraconazol (Gremião et al., 2009; Rodrigues, 2009). A associação desse fármaco foi realizada com anfotericina B por via subcutânea a 0,5 mg/Kg, com cura clínica em seis casos refratários (n=17) (Rodrigues, 2009). A associação com anfotericina B por via intralesional a 1 mg/ Kg foi realizada em um gato com lesão refratária na ponte nasal, com cura clínica após três aplicações (Gremião et al., 2009).

Apesar do tratamento regular e prolongado, em alguns gatos a doença persiste e pode progredir. Schubach T et al. (2004) relataram a reativação de lesões cutâneas entre três e 18 meses após o final do tratamento com cura clínica. Formas viáveis de *S. schenckii* podem ficar sequestradas nos tecidos por seis meses sem ocasionar sinais clínicos. Lesões aparentemente cicatrizadas podem ser reativadas e progredirem para lesões cutâneas características após imunossupressão com corticóide (MacDonald et al., 1980) .

1.9.1 ESPOROTRICOSE REFRATÁRIA AO TRATAMENTO ANTIFÚNGICO

Esporotricose refratária ou falha terapêutica é caracterizada por reduzida ou nenhuma resposta clínica (Rey 2003) após tratamento regular com antifúngicos. A sua ocorrência é comum em gatos, como constatado por Pereira et al. (2010), que obtiveram a cura clínica em apenas 30,8% dos gatos tratados com azólicos em doses mais elevadas que a literatura.

Tem sido observado na rotina de atendimento do Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (LAPCLIN-DERMZOO)/IPEC que lesões consideradas refratárias ao tratamento antifúngico estão localizadas principalmente na região nasal. Por meio de consulta ao banco de dados do laboratório, verificou-se que 185 gatos com esporotricose foram atendidos no ano de

2006, em que 93 (50,3%) possuíam lesão em região nasal. Dentre esses animais, 21 (22,6%) apresentaram lesões refratárias de esporotricose na região nasal. Portanto, esse foi um sítio que apresentou alta ocorrência dessas lesões, o que pode contribuir para o incremento nos riscos de transmissão da doença.

Pereira et al. (2010) observaram associação entre a presença de sinais respiratórios na esporotricose felina com a ocorrência de falha terapêutica e o óbito.

2 JUSTIFICATIVA

Na esporotricose felina, não são conhecidos os fatores preditivos e de prognóstico, as causas da maior frequência das lesões refratárias ao tratamento antifúngico na região nasal e por que os sinais respiratórios, segundo Pereira et al. (2010), estão associados à falência terapêutica e óbito nesses animais. Possivelmente, o reduzido aporte sanguíneo local e as alterações teciduais associadas à resposta inflamatória do hospedeiro contra o fungo funcionem como barreiras para ação dos antifúngicos. Entretanto, não foram encontrados estudos acerca das alterações histológicas associadas ao fungo *S. schenckii* na região nasal de gatos envolvendo as regiões anatômicas de ponte, plano, fossas nasais e conchas nasais. A descrição dessas alterações em lesões sem tratamento antifúngico e em lesões refratárias na região nasal contribuirá para o conhecimento das características e extensão da reação inflamatória nesse sítio, associada à intensidade de infecção pelo fungo *S. schenckii*. Portanto, esse estudo poderá prover importantes informações para posterior identificação das causas das lesões refratárias na região nasal, assim como de fatores preditivos e de prognóstico da esporotricose felina, que possam contribuir para implementação de um tratamento mais eficaz, com intuito de alcançar a cura clínica definitiva.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever as alterações anatomopatológicas de lesões de esporotricose na região nasal de gatos que não receberam tratamento antifúngico prévio e de gatos com lesões refratárias nesse sítio após tratamento antifúngico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever o tipo e a intensidade da inflamação, os tipos e a frequência das células inflamatórias envolvidas e a extensão do infiltrado inflamatório.
- Descrever a forma, a localização e a quantidade de estruturas leveduriformes de *S. schenckii* associadas às lesões.
- Relacionar os sinais clínicos cutâneos, respiratórios e o tempo de duração das lesões dermatológicas na região nasal de gatos com as alterações histológicas e a quantidade de estruturas leveduriformes presentes nesse sítio.

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo descritivo de série de casos.

4.2 CASUÍSTICA

4.2.1 AMOSTRA

Utilizou-se uma amostra de conveniência composta por 50 gatos com lesão na região nasal e diagnóstico micológico de esporotricose atendidos no ambulatório clínico do Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (LAPCLIN-DERMZOO)/IPEC/FIOCRUZ, no período entre 2007 e 2009. Foram estudados 27 gatos com lesão na região nasal sem tratamento, assim como 23 gatos com lesão na região nasal refratária ao tratamento antifúngico. Os animais foram submetidos à biopsia ou à necropsia, de acordo com a evolução do quadro clínico ou por decisão do proprietário.

Os gatos foram dispostos em dois grupos:

- Grupo I: vinte e sete gatos com lesão na região nasal sem tratamento antifúngico prévio, atendidos pela primeira vez.
- Grupo II: vinte e três gatos com lesão na região nasal caracterizada como refratária. Quinze desses animais estavam em tratamento com itraconazol (8,3 a 27,7 mg/kg/dia) por período mínimo de oito semanas e oito animais em tratamento por combinação desse fármaco com aplicação intralesional (1mg/kg/aplicação) ou subcutânea de anfotericina B (0,5mg/Kg/aplicação), após falha terapêutica com o uso isolado do itraconazol.

4.2.2 RECRUTAMENTO DE INDIVÍDUOS

Os casos foram selecionados a partir da demanda espontânea ou de encaminhamento médico ao serviço, assim como por meio do banco de dados do LAPCLIN-DERMZOO/ IPEC e consulta aos prontuários médicos.

4.2.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Gatos com isolamento de *S. schenckii* em cultura a partir de biopsia ou *swab* de lesão na região nasal.
- Presença de lesão em região nasal.
- Idade entre seis meses e 10 anos nos gatos submetidos à biopsia e ilimitada nos animais submetidos à eutanásia e necropsiados.

4.2.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Contra-indicação à realização de biopsia: estado geral comprometido.

4.3 DESENVOLVIMENTO

4.3.1 OBTENÇÃO DE REGISTROS E DADOS

Os dados foram obtidos por meio de consulta ao banco de dados do LAPCLIN-DERMZOO e aos prontuários médicos.

4.3.2 CONSENTIMENTO DE PROCEDIMENTOS

Os animais elegíveis participaram do presente estudo, mediante autorização expressa pelo proprietário em Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme apêndice A.

4.3.3 LOCAIS DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO

O estudo foi realizado no Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses de Animais Domésticos (LAPCLIN-DERMZOO) e também no Serviço de Anatomia Patológica (SAP)- IPEC/ FIOCRUZ.

4.3.4 PROCEDIMENTOS CLÍNICOS

4.3.4.1 ATENDIMENTO CLÍNICO

Os gatos atendidos no ambulatório do LAPCLIN-DERMZOO com lesões na região nasal suspeitas de esporotricose foram submetidos a exame clínico geral e dermatológico. Foram coletadas informações sobre o tempo de duração das lesões nasais; características das lesões nasais (úlceras, nódulo, tumoração, oclusão); distribuição de lesões cutâneas corporais: L1 (lesões em um local), L2 (lesões em dois locais não contíguos) e L3 (lesões em três ou mais locais não contíguos); sinais clínicos extracutâneos respiratórios (espirros, dispnéia, secreção nasal); submissão à terapia antifúngica (apêndice D).

4.3.4.1.1 DEFINIÇÃO DE CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS LESÕES NASAIS, SEGUNDO REY (2003)

- Nódulo: Lesão primária da pele, caracterizada por formação sólida, palpável, com diâmetro entre 5 e 10 mm. Pode apresentar úlcera.
- Tumoração: Massa tecidual com diâmetro maior que 10 mm. Pode apresentar úlcera.
- Úlcera: Lesão secundária da pele ou de superfície mucosa caracterizada por perda da camada epitelial e de parte das camadas subjacentes em uma área com ocorrência de inflamação ou necrose.

4.3.4.2 COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Animais de ambos os grupos foram sedados, após consentimento do proprietário em termo de autorização. Para tanto, administrou-se uma associação de cloridrato de cetamina 10% (10 mg/Kg) e acepromazina 1% (0,2 mg/Kg) por via intramuscular.

Após cuidados de assepsia e anti-sepsia com utilização de álcool 70%, anestesia local com cloridrato de lidocaína 2% sem vasoconstrictor, os gatos foram submetidos à biopsia. Foram coletados dois fragmentos de lesão cutânea localizada na região nasal utilizando-se *punch* de 3 mm, com a maior profundidade possível, para atingir também a derme profunda e o tecido subcutâneo (Marques et al., 1992).

Um fragmento foi acondicionado em solução salina estéril e encaminhado para o Laboratório de Micologia do IPEC, onde posteriormente foi triturado, semeado em meio Saboraud e Agar Micobiótico e incubado por quatro semanas para observação de crescimento fúngico. Os isolados suspeitos foram subcultivados em Agar Batata a 25°C e em meio BHI a 37°C, para exames macroscópicos e microscópicos (Schubach et al., 2003). O outro fragmento foi fixado em formol a 10% e encaminhado ao SAP-IPEC para realização do exame histopatológico.

Alguns gatos foram submetidos ao procedimento de eutanásia na rotina de atendimento, por impossibilidade de tratamento ou por falência terapêutica. Para

tanto, os animais foram sedados conforme procedimento supracitado, e em seguida foi administrada uma superdosagem de tiopental sódico por via intravenosa. Esses animais foram necropsiados e toda a região nasal abrangendo ponte, plano, vestíbulo, mucosa respiratória e conchas nasais foi coletada com auxílio de serra. A obtenção desse material destinou-se a um exame macroscópico e microscópico mais amplo que a biopsia, que possibilitasse a verificação de envolvimento ósseo ou de mucosas. Esse material coletado foi fixado em formol a 10% e também encaminhado para o SAP-IPEC para realização de exame histopatológico.

4.3.4.3 EXAME HISTOPATOLÓGICO

As amostras de tecido coletadas em biopsia e necropsia e fixadas em formol a 10% foram processadas de acordo com as técnicas usuais para inclusão em parafina, seccionadas por um micrótomo de 5 μ m e processadas pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE), de Ácido Periódico de Schiff (PAS) e de impregnação pela prata de Grocott (Behmer et al., 1976). A avaliação do material foi realizada por dois observadores distintos e de forma cega em relação aos grupos de estudo.

Todos os campos de visualização em todas as secções histológicas foram percorridos e avaliados.

4.3.4.3.1 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA POR HE

De acordo com Miranda et al. (2009) o infiltrado inflamatório foi classificado como granulomatoso quando havia células ativadas do sistema fagocítico

mononuclear formando agregados compactos ou cordões intersticiais abundantes. Além disso, a presença de leucócitos polimorfonucleares no infiltrado granulomatoso, designou-o como supurativo e sua ausência como não- supurativo.

Quanto à presença de granulomas, estes foram classificados como bem organizados quando apresentavam limites bem definidos e predominância de células epitelióides; e como mal organizados quando fossem mal delimitados e/ou houvesse predomínio de macrófagos.

O infiltrado que não contivesse características do tipo granulomatoso foi denominado como inespecífico.

Segundo a distribuição, o infiltrado foi classificado como: difuso, nodular, perivascular, perifolicular ou intersticial.

A intensidade do infiltrado inflamatório foi classificada como ausente, leve a moderada ou acentuada. Ademais, os tipos celulares encontrados foram descritos assim como as suas intensidades. As intensidades dos tipos celulares e do infiltrado inflamatório foram categorizadas baseando-se em Lei et al. (1993), com modificações, sendo a quantificação celular realizada em um campo de 40x (*high power field*) na área da lesão. Foi adotada a seguinte categorização: ausente; leve a moderada, quando entre uma e 30 células; acentuada, quando acima de 30 células.

4.3.4.3.2 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA POR IMPREGNAÇÃO PELA PRATA DE GROCOTT E POR PAS

Essas técnicas foram utilizadas para identificação de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* presentes nos cortes histológicos e para sua descrição morfológica.

Além disso, empregou-se a técnica de PAS na localização dessas estruturas leveduriformes e sua quantificação foi realizada por meio da impregnação pela prata de Grocott. A intensidade da infecção foi categorizada da seguinte forma, segundo

Miranda et al. (2009): ausente, leve a moderada, quando entre uma e 25 estruturas leveduriformes por corte histológico; acentuada, quando acima de 25 estruturas leveduriformes por corte histológico.

4.4 ASPECTOS ÉTICOS

O presente projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o número de protocolo P-0482/08.

4.5 ANÁLISE DOS DADOS

No apêndice D, observam-se todos os dados coletados e armazenados em banco de dados informatizado EPIDATA versão 3.1 e exportados posteriormente para o programa SPSS versão 11.0 para análise estatística.

Utilizou-se a descrição das frequências nas variáveis categóricas e das medidas-resumo (mediana, mínimo e máximo) na variável contínua tempo de duração de lesões dermatológicas.

Na verificação de associação entre variáveis categóricas foi empregado o teste qui-quadrado de Pearson. No caso de tabelas formadas por duas linhas e duas colunas ou com contagens menores que 5, utilizou-se o teste exato de Fisher.

P-valores < 0,05 indicaram associações estatisticamente significantes.

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Estado geral inicial considerado bom foi o mais frequente e ocorreu em 12 (44,4%) gatos do grupo I e em 16 (69,6%) do grupo II. O restante apresentou-se como regular ou péssimo. No grupo II, cinco casos que apresentavam estado geral bom no primeiro atendimento foram submetidos à necropsia posteriormente, com piora do quadro clínico geral.

A distribuição inicial de lesões foi classificada como L1 em quatro (14,8%) casos, L2 em seis (22,2%) e L3 em 17 (63,0%) no grupo I. No grupo II, dez (43,5%) eram L1, três L2 (13,0%) e outros dez L3 (43,5%). Ademais, no grupo II, oito casos com distribuição inicial L2 ou L3 evoluíram para distribuição L1, com lesão apenas na região nasal; os demais continuavam apresentando lesões em mais de dois sítios.

Na pele nasal dos casos do grupo I, nódulos ocorreram em dez (37,0%), tumoração em seis (22,2%) e úlceras ocorreram em 20 (74,1%). No grupo II, nódulos foram observados em nove (39,1%), tumoração em seis (26,1%) e úlceras em 12 (52,2%) casos.

Os tipos de lesão na região nasal estão ilustrados nas figuras 1A a 1D.

Lesões somente em região de pele de plano ou ponte nasal ocorreram em dez (37,0%) casos do grupo I e em 12 (52,2%) no grupo II.

Lesões em pele e lesões oclusivas em mucosa da região nasal foram verificadas concomitantemente em 17 (63,0%) casos no grupo I e em 11 (47,8%) do grupo II, respectivamente. Lesão somente na mucosa da região nasal não foi observada em ambos os grupos.



Figura 1: Gatos domésticos com esporotricose. A) Gato sem tratamento antifúngico com extensa tumoração ulcerada na região nasal. B) Gato sem tratamento antifúngico. Ulceração extensa e profunda na região nasal. C) Gato com esporotricose refratária. Nódulo (seta) na ponte nasal. D) Gato sem tratamento antifúngico. Lesão parcialmente oclusiva em mucosa nasal (seta azul) e lesão ulcerada recoberta por crosta em plano nasal (seta amarela).

Espirros foram verificados em 12 (44,4%) e em 15 (65,2%) gatos, dos grupos I e II respectivamente. Assim como, dispnéia em 14 (51,9%) e em nove (39,1%), nessa mesma ordem. Secreção nasal foi verificada em três casos do grupo I (11,1%) e em três (13,0%) do grupo II.

A avaliação clínica dos animais pertencentes ao grupo II, tratados por monoterapia com itraconazol e dos tratados por associação de itraconazol e anfotericina B está demonstrada na tabela 1.

Tabela 1: Avaliação clínica de oito gatos com esporotricose nasal refratária (grupo II) em tratamento com itraconazol isoladamente ou associado à aplicação de anfotericina B.

Avaliação clínica de gatos com esporotricose nasal refratária	Categoria	Itraconazol (N= 15)	Itraconazol + anfotericina B (N=8)
		n	n
Estado geral	Bom	11	5
	Regular ou péssimo	4	3
Distribuição de lesões cutâneas corporais	L1	8	2
	L2	2	1
	L3	5	5
Tipo de lesão nasal	Nódulo	6	3
	Tumor	4	2
	Úlcera	9	3
Localização de lesão nasal	Apenas em pele	9	3
	Apenas em Mucosa	-	-
	Pele e mucosa	6	5
Sinais extracutâneos respiratórios	Dispnéia	5	4
	Espirros	9	6
	Secreção nasal	1	2

O tempo mediano de duração das lesões dermatológicas associadas à esporotricose foi de 10 semanas, com mínimo de duas e máximo de 48 semanas no grupo I. No grupo II a mediana desse tempo foi de 36 semanas, com mínimo de 10 e máximo de 152 semanas.

5.2 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

5.2.1. PELE, TECIDO SUBCUTÂNEO E MUSCULATURA ESTRIADA ESQUELÉTICA SUBJACENTE.

5.2.1.1 EXTENSÃO DAS LESÕES ASSOCIADAS AO FUNGO *S. SCHENCKII*

Considerando os 50 animais submetidos à necropsia ou biopsia, a extensão das lesões com presença de estruturas leveduriformes do fungo *S. schenckii* em pele, tecido subcutâneo e musculatura estriada esquelética subjacente encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2. Extensão das lesões com presença de estruturas leveduriformes do fungo *S. schenckii* em pele, tecido subcutâneo e musculatura estriada esquelética subjacente na região nasal de 50 gatos pertencentes aos grupos I e II.

Tecidos com lesão associada a <i>S. schenckii</i>	Grupo I	(%)	Grupo II	(%)
	(n= 27)		(n= 23)	
Derme superficial	26	96,3	19	82,6
Derme profunda	26	96,3	17	74,0
Tecido subcutâneo	19	70,4	12	52,2
Musculatura estriada esquelética	17	63,0	5	21,7

Considerando os oito casos de tratamento por combinação de itraconazol e anfotericina B no grupo II, todos apresentaram lesão em derme superficial nasal e sete em derme profunda, quatro casos em tecido subcutâneo e dois em musculatura estriada esquelética.

Miosite piogranulomatosa com degeneração de fibras associada a *S. schenckii* na musculatura esquelética subjacente à pele, pode ser observada na figura 2B.

5.2.1.2 CARACTERIZAÇÃO DO INFILTRADO INFLAMATÓRIO E DESCRIÇÃO DAS LESÕES NA PELE NASAL

No grupo I (n=27), o infiltrado granulomatoso supurativo ocorreu na pele de todos os 27 casos avaliados (100,0%). Quanto à distribuição celular no infiltrado granulomatoso, foram encontrados: 21 (77,8%) do tipo difuso, quatro (14,8%) do tipo nodular e dois (7,4%) do tipo intersticial. No grupo II (n=23), o infiltrado granulomatoso supurativo ocorreu em 19 (82,6%) casos, sendo sete destes tratados por associação entre itraconazol e anfotericina B. Infiltrado inespecífico com distribuição celular intersticial foi observado em um (4,3%) caso de tratamento associado, com presença de neutrófilos, plasmócitos e linfócitos, e ausência de alterações microscópicas relevantes ocorreu em três (13,0%) outros casos refratários. No infiltrado granulomatoso, distribuição celular difusa ocorreu em 15 casos (65,2%), nodular em três (13,0%) e intersticial em um (4,3%) caso tratado por associação entre itraconazol e anfotericina B. Os demais casos (n=7) tratados por meio dessa combinação apresentaram distribuição difusa.

As frequências dos tipos de granulomas, da diferenciação predominante das células do sistema fagocítico mononuclear (SFM) no infiltrado granulomatoso, da presença de células gigantes e das intensidades do infiltrado inflamatório nos gatos de ambos os grupos encontram-se na Tabela 3. Foi constatada diferença

estatisticamente significativa entre a ocorrência de granulomas mal organizados e os grupos ($p=0,014$).

Tabela 3. Frequências dos tipos de granulomas, da diferenciação predominante das células do SFM no infiltrado granulomatoso e das intensidades do infiltrado inflamatório na derme de gatos com esporotricose sem tratamento antifúngico prévio (grupo I) e de gatos com esporotricose apresentando lesões refratárias (grupo II).

Variável	Categoria	Grupo I (N=27)		Grupoll (N=23)		p-valor* (teste exato de Fisher)
		n	(%)	n	(%)	
Organização do granuloma	Bem organizado	2	7,4	5	21,7	0,225
	Mal organizado	25	92,6	14	60,9	0,014
Diferenciação predominante de células do SFM no granuloma	Macrófagos	21	77,8	11	47,8	0,214
	Células epitelióides	6	22,2	8	34,8	
Intensidade do infiltrado inflamatório	Ausente	-	-	3	13,0	0,083
	Leve a moderada	3	11,1	4	17,4	
	Acentuada	24	88,9	16	69,6	

*p- valor <0,05 na indicação de significância estatística.

No grupo II, considerando os casos tratados por associação entre itraconazol e anfotericina B ($n=8$), granulomas bem organizados ocorreram em três casos. Quanto à diferenciação predominante das células do SFM, quatro casos apresentaram predominância de macrófagos e os outros quatro de células epitelióides. Em apenas um caso observou-se intensidade acentuada do infiltrado inflamatório, enquanto os demais apresentavam intensidade leve a moderada.

A organização do granuloma encontra-se ilustrada nas figuras 2A e 2C.

Neutrófilos dispersos na derme foram observados em todos os casos com infiltrado granulomatoso supurativo ou inespecífico em ambos os grupos. Esses leucócitos polimorfonucleares estavam localizados no centro de granulomas bem

organizados quando presentes e formavam microabscessos em 11 (40,7%) casos do grupo I e em oito (34,8%) do grupo II, sendo três destes casos correspondentes ao tratamento por associação de fármacos.

Outras células inflamatórias presentes na derme foram linfócitos e plasmócitos distribuídos em região perifolicular, perivascular, entre fibras de colágeno e ao redor de granulomas bem organizados. Mastócitos também foram visualizados na derme da ponte nasal, porém com intensidade leve à moderada.

A intensidade de cada tipo celular presente no infiltrado inflamatório granulomatoso encontra-se na Tabela 4. Não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre a intensidade de cada tipo celular e a diferenciação de fagócitos predominante no granuloma.

Tabela 4. Intensidade de cada tipo de célula inflamatória presente no infiltrado granulomatoso da derme da região nasal, relacionada ao tipo predominante de diferenciação de fagócitos no granuloma nos gatos com esporotricose sem tratamento antifúngico (grupo I) e nos gatos com esporotricose apresentando lesões refratárias (grupo II).

<i>Tipo celular</i>	<i>Intensidade</i>	Tipo predominante de diferenciação de fagócitos no granuloma			
		Macrófagos		Células epitelióides	
		Grupol (n=21)	Grupoll (n= 11)	Grupol (n=6)	Grupoll (n=8)
NI	Ausente	-	-	-	-
	Leve a moderada	1	2	1	-
	Acentuada	20	9	5	8
PI	Ausente	-	-	-	-
	Leve a moderada	6	3	1	-
	Acentuada	15	8	5	8
LI	Ausente	-	1	-	1
	Leve a moderada	9	3	2	1
	Acentuada	12	7	4	6
MI	Ausente	-	-	-	1
	Leve a moderada	1	3	2	3
	Acentuada	20	8	4	4
EI	Ausente	16	6	-	-
	Leve a moderada	5	4	1	-
	Acentuada	-	1	5	8
CGI	Ausente	7	5	1	6
	Leve a moderada	14	6	5	2
	Acentuada	-	-	-	-

NI=Neutrófilos no Infiltrado; PI=Plasmócitos no Infiltrado; LI=Linfócitos no Infiltrado; MI=Macrófagos no Infiltrado; EI=Células epitelióides no Infiltrado; CGI= Células Gigantes no Infiltrado

¹ *Corresponde apenas aos casos com infiltrado inflamatório do tipo granulomatoso.

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre a presença de células gigantes e os grupos de estudo ($p=0,022$), com ocorrência de 70,4% no grupo I.

A intensidade de cada tipo de célula inflamatória no infiltrado granulomatoso da derme da região nasal, relacionada ao tipo predominante de diferenciação de fagócitos nos gatos com esporotricose pertencentes ao grupo II tratados por monoterapia com itraconazol e nos gatos tratados por combinação de itraconazol e anfotericina B encontra-se na tabela 5.

Tabela 5: Intensidade de cada tipo de célula inflamatória presente no infiltrado granulomatoso da derme da região nasal, relacionada ao tipo predominante de diferenciação de fagócitos no granuloma nos gatos com esporotricose nasal refratária (grupo II) em tratamento com itraconazol isoladamente ou por combinação deste com aplicação de anfotericina B.

<i>Tipo celular</i> (n=19) *	<i>Intensidade</i>	Tipo predominante de diferenciação de fagócitos no granuloma			
		Macrófagos		Células epitelióides	
		Itraconazol (n=8)	Itraconazol + anfotericina B (n=3)	Itraconazol (n=4)	Itraconazol + anfotericina B (n=4)
NI	Ausente	-	-	-	-
	Leve a moderada	1	1	-	-
	Acentuada	7	2	4	4
PI	Ausente	-	-	-	-
	Leve a moderada	2	1	-	-
	Acentuada	6	2	4	4
LI	Ausente	1	-	1	-
	Leve a moderada	1	2	1	-
	Acentuada	6	1	2	4
MI	Ausente	-	-	1	-
	Leve a moderada	2	1	2	1
	Acentuada	6	2	1	3
EI	Ausente	5	1	-	-
	Leve a moderada	3	1	-	-
	Acentuada	-	1	4	4
CGI	Ausente	4	1	3	3
	Leve a moderada	4	2	1	1
	Acentuada	-	-	-	-

NI=Neutrófilos no Infiltrado; PI=Plasmócitos no Infiltrado; LI=Linfócitos no Infiltrado; MI=Macrófagos no Infiltrado; EI=Células epitelióides no Infiltrado; CGI= Células Gigantes no Infiltrado

*Corresponde apenas aos casos com infiltrado inflamatório do tipo granulomatoso.

Outras alterações histológicas presentes na pele podem ser observadas na Tabela 6.

Tabela 6: Outras alterações histológicas na pele da região nasal de gatos com esporotricose sem tratamento (grupo I) e em gatos com esporotricose refratária (grupo II).

Alterações histológicas na pele	Grupo I (N=27)		Grupo II (N=23)	
	n	(%)	n	(%)
Úlcera	19	70,4	10	43,5
Degeneração de colágeno	23	85,2	16	69,6
Hemorragia	17	63,0	11	47,8
Fibrose	1	3,8	4	17,4

Nos animais do grupo II submetidos ao tratamento por associação (n=8), observou-se úlcera em um caso, degeneração de colágeno em cinco, hemorragia em quatro e fibrose em dois casos. A ocorrência de fibrose encontra-se ilustrada na figura 2D.

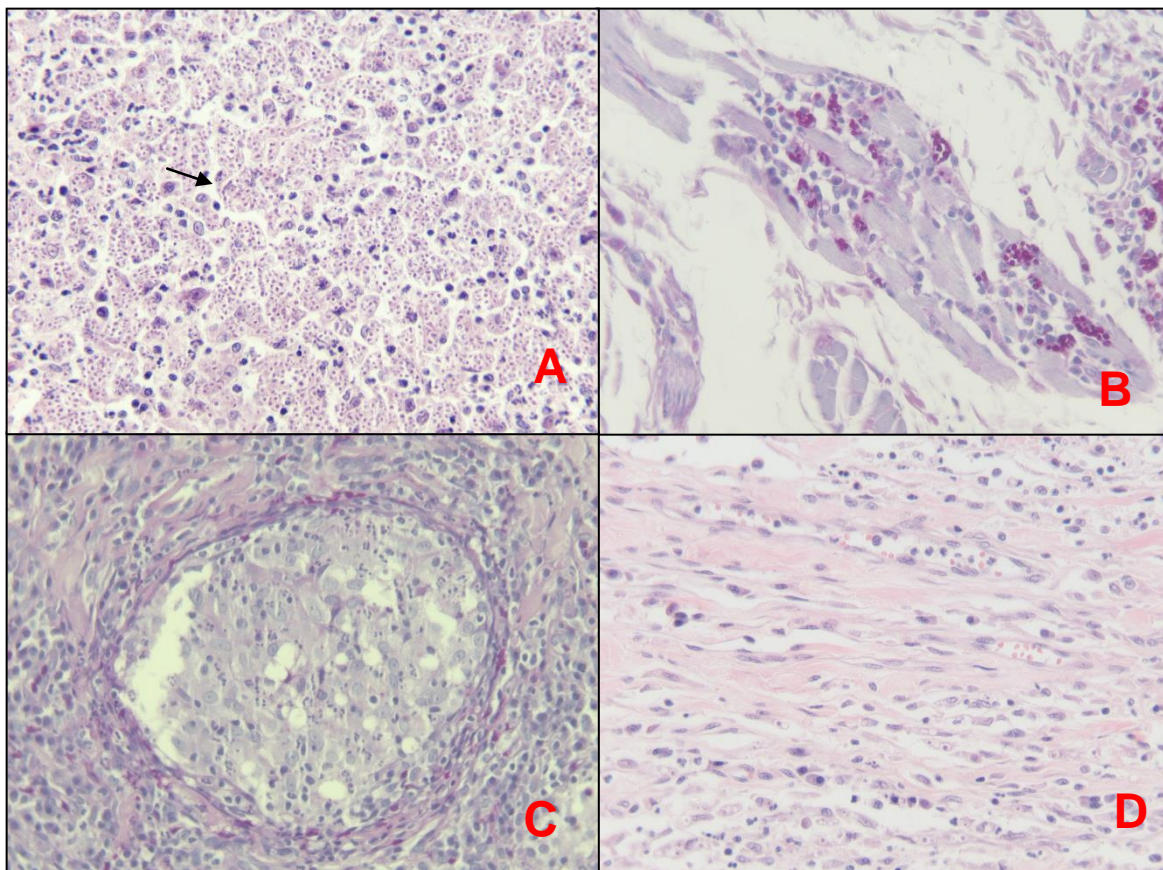


Figura 2: Esporotricose felina. Região nasal. A) Caso refratário. Lesão piogranulomatosa rica em estruturas leveduriformes fagocitadas por macrófagos na derme superficial (seta). HE (objetiva 40x). B) Caso refratário. Miosite crônica e degeneração de fibras musculares esqueléticas subjacentes ao tecido subcutâneo e presença de estruturas leveduriformes. PAS (objetiva 10x). C) Caso refratário. Granuloma bem organizado supurativo e infiltrado piogranulomatoso na derme profunda. PAS (objetiva 40x). D) Caso refratário. Fibrose limitada por tecido conjuntivo e células mononucleares. HE (objetiva 40x).

5.2.2 DEMAIS TECIDOS DA REGIÃO NASAL

5.2.2.1 EXTENSÃO DAS LESÕES ASSOCIADAS AO FUNGO *S. SCHENCKII*

Considerando somente os 23 gatos submetidos à necropsia, 14 do grupo I e nove do grupo II, a extensão das lesões com presença de estruturas leveduriformes do fungo *S. schenckii* nos demais tecidos da região nasal além da pele encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7. Extensão das lesões com presença de estruturas leveduriformes do fungo *S. schenckii* em cartilagem hialina, mucosa do vestíbulo, mucosa respiratória, mucosa das conchas nasais e tecido ósseo da região nasal dos 23 gatos necropsiados pertencentes aos grupos I e II.

Tecidos com lesão associada a <i>S. schenckii</i>	Grupo I (n= 14)	(%)	Grupo II (n= 9)	(%)
*Cartilagem hialina	3	21,4	4	44,4
Mucosa do vestíbulo	14	100,0	9	100,0
Mucosa respiratória	7	50,0	4	44,4
Mucosa das conchas nasais	6	42,8	3	33,3
Tecido ósseo	6	42,8	3	33,3

*Cartilagem hialina de sustentação do vestíbulo e área respiratória.

Nos animais tratados por associação entre itraconazol e anfotericina B, lesões com presença de *S. schenckii* em região nasal estenderam-se para: vestíbulo (n=3), cartilagem (n=1), mucosa respiratória (n=2) e conchas (n=1).

5.2.2.2 DESCRIÇÃO DAS LESÕES

Na mucosa do vestíbulo, respiratória e das conchas nasais foi possível observar ulceração e presença de infiltrado inflamatório granulomatoso supurativo de intensidade leve a acentuada na lâmina própria. Essa camada encontrava-se espessada, promovendo a oclusão parcial das narinas e apresentava destruição de glândulas mistas (figuras 3B e 3C), áreas de hemorragia e microabscessos.

A frequência das alterações na mucosa da região nasal em gatos necropsiados dos grupos I e II encontra-se na Tabela 8.

Tabela 8: Frequência das alterações histológicas presentes em mucosa nasal de gatos com esporotricose necropsiados sem tratamento (grupo I) e de gatos com esporotricose refratária (grupo II).

Alterações em mucosa nasal (N=23)	Vestíbulo		Mucosa respiratória		Conchas nasais	
	Grupo I (n=14)	Grupo II (n=9)	Grupo I (n=7)	Grupo II (n=4)	Grupo I (n=6)	Grupo II (n=3)
Úlcera de epitélio	12	9	5	3	6	2
Espessamento	13	4	6	3	5	-
Destruição de glândulas mistas	11	6	4	4	3	1
Abscesso	5	5	-	2	3	2
Hemorragia	5	3	1	1	1	-

Três animais pertencentes ao grupo II submetidos ao tratamento por associação medicamentosa foram submetidos à necropsia. Observou-se no vestíbulo nasal: úlcera (n=3), espessamento (n=3) e abscessos (n=2). Na mucosa nasal também ocorreram úlcera (n=1) e espessamento (n=1). Destruição de glândulas mistas em conchas nasais ocorreu em um caso.

Na cartilagem hialina, áreas de degeneração foram observadas (figura 3A).

No tecido ósseo, osteomielite com infiltrado granulomatoso supurativo de intensidade leve a acentuada e áreas de osteólise foram observados (figuras 3D a 3F).

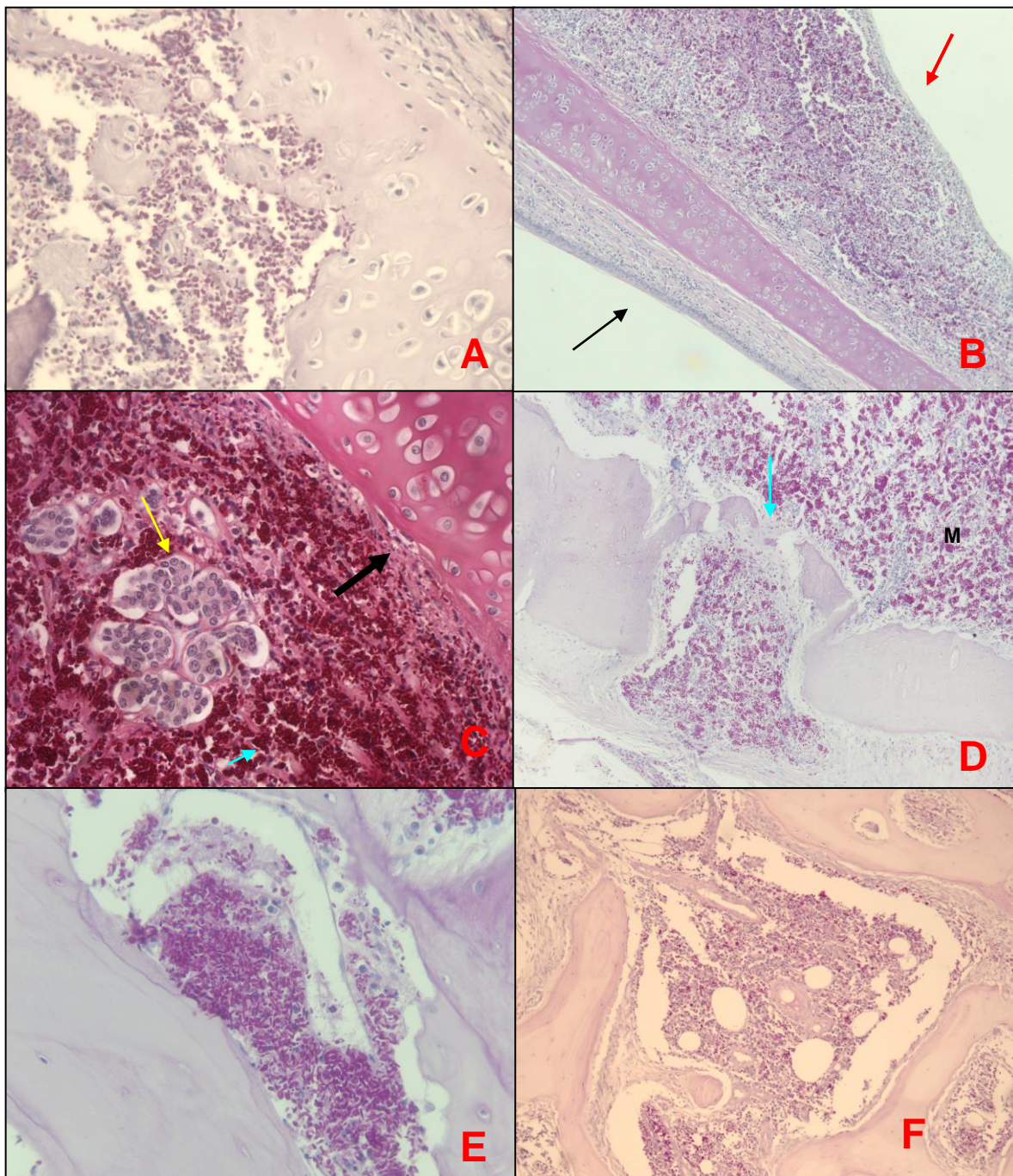


Figura 3: Esporotricose felina. Região nasal. A) Caso sem tratamento. Mucosa do vestíbulo. Destruição de cartilagem hialina e presença de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii*. PAS (objetiva 40x). B) Caso refratário. Mucosa do vestíbulo. Lâmina própria espessada (lado direito) e normal (lado esquerdo) com acentuado infiltrado inflamatório e destruição de glândulas mistas. HE (objetiva 10x). C) Caso sem tratamento. Mucosa do vestíbulo. Espessamento da lâmina própria com intensidade acentuada de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* (seta azul). Glândulas mistas (seta amarela). Cartilagem hialina (seta preta). PAS (objetiva 20x). D) Caso sem tratamento. Mucosa respiratória (M). Lise de tecido ósseo (seta azul) e intensidade acentuada de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii*. PAS (objetiva 10x). E) Caso refratário. Tecido ósseo da região nasal. Osteomielite. PAS (objetiva 10x). F) Caso sem tratamento. Tecido ósseo da região nasal. Abundantes estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* em medula óssea. PAS (objetiva 10x).

5.2.3 FREQUÊNCIA, MORFOLOGIA, INTENSIDADE E LOCALIZAÇÃO DAS ESTRUTURAS LEVEDURIFORMES DE *S. SCHENCKII*

5.2.3.1 FREQUÊNCIA

Estruturas leveduriformes de *S. schenckii* foram observadas em 26 (96,3%) casos no grupo I e em 18 (78,3%) do grupo II, incluindo um caso de infiltrado inespecífico e outro sem alterações histológicas, nos casos refratários.

No grupo II, seis casos com presença de estruturas leveduriformes correspondiam ao tratamento por associação farmacológica entre itraconazol e anfotericina B.

5.2.3.2 MORFOLOGIA E INTENSIDADE DE INFECÇÃO

Foram observadas formas arredondadas com ou sem brotamento em forma de clava, em charuto, hifas e formas atípicas em ambos os grupos (figuras 4A a 4D). As formas atípicas encontradas, presentes em ambos os grupos foram: estruturas leveduriformes com dois ou múltiplos brotamentos (figura 4B) e estruturas leveduriformes de grande tamanho e parede celular deformada (figura 4C). Não foram observados corpos asteróides em ambos os grupos de estudo.

As intensidades de infecção e frequências das diferentes formas de estruturas leveduriformes encontradas em gatos do grupo I e do grupo II, encontram-se na Tabela 9. Foi observada diferença estatisticamente significativa entre a presença de estruturas leveduriformes com brotamento e os grupos ($p=0,017$) e entre a presença de hifas e os grupos ($p=0,019$).

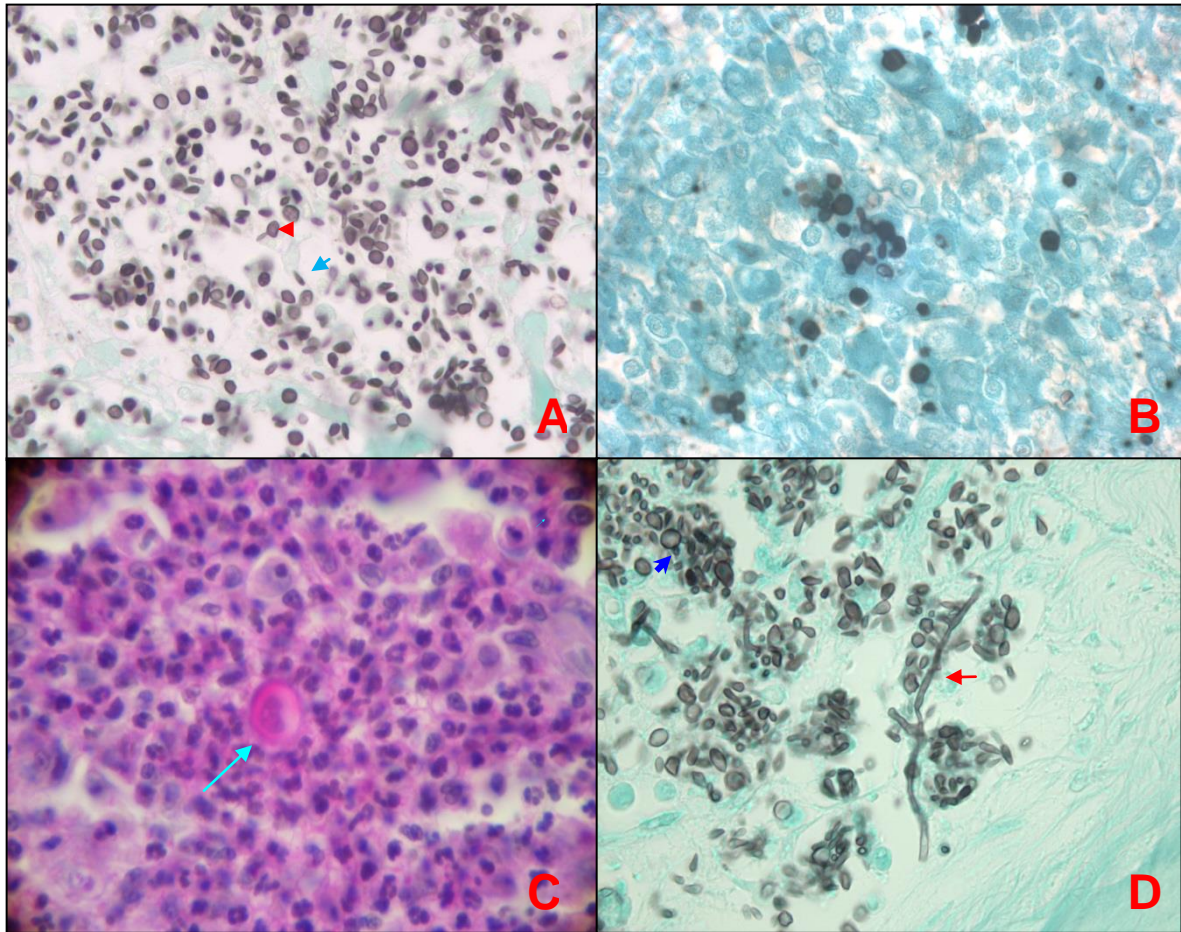


Figura 4: Esporotricose felina. Região nasal. A) Caso sem tratamento. Derme nasal. Estruturas leveduriformes arredondadas com unibrotamentos (ponta de seta vermelha) e em forma de charuto (ponta de seta azul) sugestivas de *S. schenckii*. Impregnação pela prata de Grocott (objetiva 100x). B) Caso sem tratamento. Derme nasal. Formas atípicas de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* com múltiplos brotamentos (ao centro). Impregnação pela prata de Grocott (objetiva 100x). C) Caso refratário. Forma atípica de estrutura leveduriforme sugestiva de *S. schenckii* de grande tamanho no centro de um microabscesso em derme nasal (seta). PAS (objetiva 100x). D) Caso refratário. Hifa septada (seta vermelha) e estruturas leveduriformes arredondadas com unibrotamentos (seta azul) e em forma de charuto sugestivas de *S. schenckii* em derme nasal. Impregnação pela prata de Grocott (objetiva 100x).

5.2.3.3 LOCALIZAÇÃO

No grupo I, estruturas leveduriformes intracelulares foram visualizadas em macrófagos (77,7%; n=21), em neutrófilos (48,1%; n=13), em células gigantes (26,0%; n=7) e em osteoclastos (14,8%; n=4). No grupo II, também foram observadas em macrófagos (43,5%; n=10); neutrófilos (39,1%; n=9), células gigantes (21,7%; n=5) e osteoclastos (4,3%; n=1) (figuras 5A a 5D). Considerando apenas os casos tratados por associação farmacológica no grupo II, estruturas leveduriformes foram encontradas em macrófagos (n=3), neutrófilos (n=3) e em células gigantes (n=1).

Nos casos do grupo I, brotamentos em estruturas leveduriformes foram observados em macrófagos (n=12), células gigantes (n=3), neutrófilos (n=3) e osteoclastos (n=2). No grupo II, também em macrófagos (n=7), células gigantes (n=3) e neutrófilos (n=1). Em relação aos animais tratados por associação farmacológica, brotamentos em estruturas leveduriformes foram observados em macrófagos (n=3) e em neutrófilos (n=1).

Estruturas leveduriformes extracelulares ocorreram no interior de microabscessos em cinco casos do grupo I e em quatro do grupo II, sendo dois casos relacionados aos animais tratados por associação. Essas estruturas foram observadas no centro de granulomas bem organizados em um caso do grupo I e em três do grupo II, todos estes pertencentes aos casos de tratamento associado. Estruturas fúngicas livres no meio extracelular foram observadas em crostas sobre a epiderme, dispersas no infiltrado inflamatório e também no muco produzido por células caliciformes da mucosa respiratória.

Ademais, houve associação entre a intensidade de estruturas leveduriformes e a presença de granulomas bem organizados no grupo II ($p=0,026$), com 50,0% de intensidade leve a moderada e ausência de intensidade acentuada.

As frequências de estruturas leveduriformes intracelulares e extracelulares encontram-se na Tabela 9.

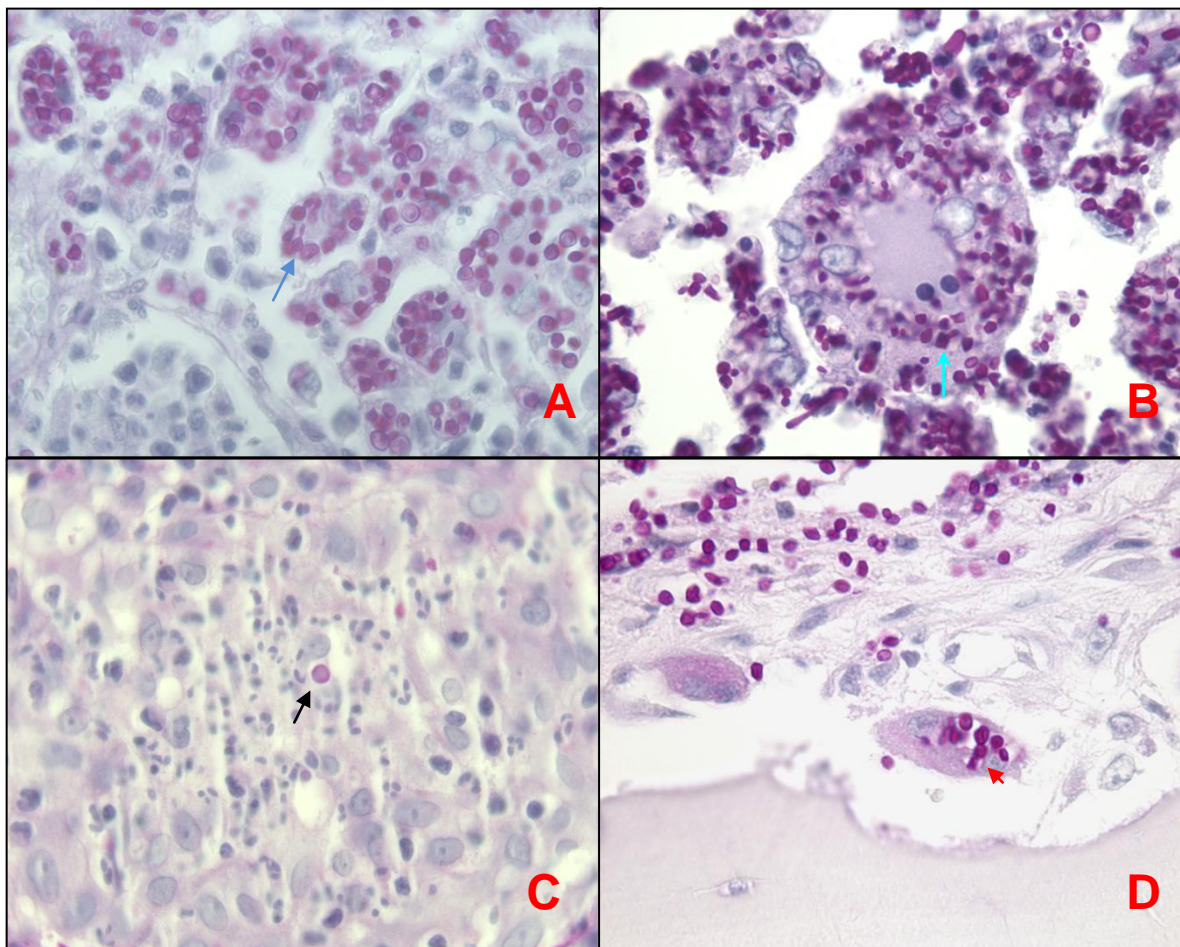


Figura 5: Esporotricose felina. Região nasal. A) Caso sem tratamento. Estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* com unibrotamento, fagocitadas por macrófagos na derme profunda (seta). PAS (objetiva 100x). B) Caso refratário. Estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* com unibrotamento, fagocitadas por células gigantes (seta). PAS (objetiva 100x). C) Caso refratário. Estrutura leveduriforme arredondada no centro de granuloma bem organizado supurativo na derme profunda (seta). PAS (objetiva 100x). D) Caso sem tratamento. Estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* com unibrotamento, fagocitadas por osteoclasto em tecido ósseo (seta). PAS (objetiva 100x).

Tabela 9. Intensidades, formas e localização das estruturas fúngicas em tecidos da região nasal de gatos com esporotricose sem tratamento (grupo I) e em animais com esporotricose refratária (grupo II).

Estruturas fúngicas	Categoria	Grupo I (N=27)	(%)	Grupoll (N=23)	(%)	p-valor* (teste exato de Fisher)
Intensidade	Ausente	1	3,7	5	21,7	0,050
	Leve a moderada	8	29,6	8	34,8	
	Acentuada	18	66,7	10	43,5	
Forma predominante	Arredondada	14	52,0	12	52,8	0,528
	Charuto	3	11,1	4	17,4	
	Sem predomínio	9	33,3	2	8,7	
	Com brotamento	22	81,5	11	47,8	
Localização predominante	Hifas	2	7,4	7	30,4	0,019
	Conídios	-	-	2	8,7	
	Intracelular	18	66,7	6	26,1	
Localização predominante	Extracelular	5	18,5	10	43,5	0,053
	Sem predomínio	3	11,1	2	8,7	

*p- valor <0,05 na indicação de significância estatística

Dentre os oito casos pertencentes ao grupo II tratados por associação de itraconazol com anfotericina B, houve intensidade leve a moderada de estruturas leveduriformes em quatro, acentuada em dois casos e ausente em dois outros casos. Forma predominantemente arredondada foi visualizada em todos os casos com presença dessas estruturas, com brotamentos em três casos. Hifas foram observadas apenas em um caso. Houve predomínio de estruturas fúngicas no meio intracelular em três casos e no meio extracelular nos outros três.

6 DISCUSSÃO

No presente estudo, gatos com esporotricose nasal sem tratamento antifúngico e outros refratários à terapia antifúngica foram submetidos à avaliação clínica e histopatológica, com o intuito de descrever as alterações anatomopatológicas na região nasal.

A frequência de sinais respiratórios foi elevada nos dois grupos. Espirros foram considerados os sinais respiratórios mais frequentes nos felinos acometidos e associados à presença de lesão em mucosa nasal, conforme relatos prévios (Schubach T et al., 2004; Leme et al., 2007; Pereira et al., 2010). Ademais, a elevada ocorrência nos casos refratários corrobora com os achados de Pereira et al. (2010) que associam os sinais respiratórios à falha terapêutica e óbito em gatos com esporotricose.

O tempo de duração das lesões dermatológicas observado nos casos de esporotricose refratária estudados foi maior do que o tempo verificado por Schubach T et al. (2004) em gatos com esporotricose tratados, com presença ou não de lesão nasal, com mediana de oito semanas (variação de uma a 128 semanas). A longa evolução nos casos refratários com presença de lesões ativas, mesmo durante o tratamento, refletem a cronicidade do processo infeccioso e a alta ocorrência da persistência de lesões na região nasal. No entanto, nesta pesquisa, o tempo mediano de duração de lesões nos animais sem tratamento foi semelhante aos relatos desses autores.

Nos casos avaliados, a esporotricose nasal felina foi classificada como granulomatosa supurativa na maioria dos casos. O infiltrado inflamatório foi composto principalmente por fagócitos mononucleares e por células polimorfonucleares, como descrito por outros autores em lesões cutâneas associadas a essa micose de sítios diversos em felinos (Dunstan et al., 1986a,b; Schubach et al., 2003, 2004; Crothers et al., 2009), em cães (Schubach et al., 2006; Miranda et al., 2009), camundongos e seres humanos (Gadelha; Talhari, 1982; Hiruma et al., 1988; Hiruma et al., 1992). Semelhantemente, ao descrito por

Miranda et al. (2009) em cães, a distribuição do infiltrado celular mostrou-se predominantemente difusa em ambos os grupos.

Neste estudo, verificou-se uma frequência reduzida de granulomas bem organizados nos animais sem tratamento, semelhantemente aos relatos de Schubach et al. (2004) em 90 gatos tratados, com uma frequência de 12,2%. Entretanto, nesta pesquisa, os granulomas bem organizados e a presença de células epitelióides foram mais frequentes nos casos refratários, possivelmente devido a maior cronicidade do processo infeccioso e ao amadurecimento dos granulomas, concordando com Miranda et al. (2009). O tempo para formação e permanência de granulomas varia de acordo com o estado imunológico do hospedeiro, mas também com a persistência do estímulo promovido pelo agente (Adams et al., 1976; Hirsh; Johnson, 1984a), com o intuito de constituir uma barreira de contenção aos fungos (Hiruma et al., 1992). Ademais, a redução da carga parasitária pelo antifúngico pode ter contribuído para uma resposta imunológica celular mais eficiente.

A intensidade do infiltrado inflamatório acentuada predominou, com elevada frequência em ambos os grupos. A ausência de alterações microscópicas em três animais do grupo II, provavelmente esteve associada à melhor ação do antifúngico ou à melhor resposta imunológica do hospedeiro nesses casos específicos. Adicionalmente, nos casos avaliados houve predomínio de diferenciação em macrófagos e presença de granulomas mal organizados, inclusive nos casos refratários, o que demonstra desenvolvimento de resposta inflamatória, porém ineficiente.

Em ambos os grupos de estudo, neutrófilos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos apresentavam elevada frequência e intensidades acentuadas, tanto nos casos de diferenciação predominante dos fagócitos em macrófagos ou células epitelióides. Gadelha e Talhari (1982) afirmaram que a presença de neutrófilos caracteriza um achado importante na esporotricose. Esses leucócitos polimorfonucleares atuam principalmente nas fases iniciais da esporotricose; posteriormente, macrófagos são recrutados e ativados por linfócitos T (Miyagi; Nishimura, 1982) para um mecanismo de defesa mais eficaz. Ademais, frequência elevada de células epitelióides com intensidade acentuada foi maior nos casos

refratários com maior formação de granulomas bem organizados, indicando uma resposta mais eficaz.

Células gigantes foram observadas com elevada frequência em ambos os grupos, principalmente nos casos sem tratamento, ao contrário de outros estudos de esporotricose em gatos e em outras espécies que relatam raridade dessas células (Werner et al., 1971; Hiruma et al., 1988; Miranda et al., 2009). De acordo com Hirsh e Johnson (1984a), a presença ou ausência de células gigantes no infiltrado não deve ser utilizada como critério diagnóstico.

A elevada ocorrência de hemorragia e úlcera em ambos os grupos pode estar relacionada à vasodilatação ou à neovascularização do processo inflamatório, como também a traumas no local, o que é muito comum. Relata-se que em cães e gatos, lesões nodulares características geralmente evoluem para ulceração (Schubach T et al., 2004, 2006). White (1994) descreve ulceração no plano nasal como o principal motivo de demanda por atendimento veterinário acerca desse sítio em gatos, o que ressalta a importância do diagnóstico diferencial. No presente estudo, também foi possível observar esta ocorrência em região de mucosa.

Fibrose ocorreu com uma baixa frequência nos dois grupos. Portanto, não esteve relacionada à falha terapêutica isoladamente, contrariando Malik et al. (2004), que relatam que a dificuldade de ação de medicamentos antifúngicos em gatos poderia estar relacionada à esta ocorrência. Adicionalmente, Lurie (1963) reporta que a fibrose geralmente ocorre em lesões de evolução mais avançada, o que corrobora com os casos estudados, onde essa alteração foi mais frequente nas lesões refratárias.

A alta frequência de degeneração de colágeno em ambos os grupos no granuloma pode estar relacionada à intensa reação inflamatória local. Gadelha e Talhari (1982) consideram um achado comum no infiltrado misto relacionado à esporotricose.

Em ambos os grupos, a elevada ocorrência de lesões associadas a *S. schenckii* em derme profunda, tecido subcutâneo, musculatura esquelética, mucosas da região nasal, que se estendiam até as conchas nasais e tecido ósseo demonstram que as alterações patológicas foram profundas, ao contrário dos relatos de Malik et al. (2004). Segundo esses autores, a esporotricose nasal felina

apresenta uma invasão local e mais superficial, relacionada à inoculação traumática do fungo com ausência de sinais clínicos nasais. No presente trabalho, as lesões ocorreram com maior frequência na mucosa do vestíbulo, podendo atingir o tecido ósseo, como descrito para criptococose e aspergilose que estão associadas à inalação de propágulos fúngicos e ao desenvolvimento de sinais nasais. Conforme Lurie (1963), dependendo da gravidade e da cronicidade do processo infeccioso, as alterações histológicas podem se estender além da derme superficial.

Esses fatores reforçam a hipótese de que em alguns casos a via respiratória seja importante na infecção de gatos pelo fungo *S. schenckii*, como sugerido por outros autores (Schubach et al., 2003; Leme et al., 2007), e que o fungo poderia se disseminar a partir da lesão inicial da mucosa para o tecido ósseo e derme como na aspergilose e criptococose (Davies; Troy, 1996; Malik et al., 2004).

As graves e frequentes lesões na mucosa dos gatos de ambos os grupos estudados podem explicar a grande ocorrência de sinais respiratórios tanto de espirros como dispnéia (por oclusão das vias aéreas) e a sua associação com falha terapêutica e óbito constatada por Pereira et al. (2010). Além disso, a presença de lesões e do fungo em mucosa e em cartilagem e a osteomielite podem estar associadas à dificuldade de chegada das drogas em concentrações adequadas nesses tecidos.

Osteomielite e degeneração de cartilagem hialina na região nasal associadas ao fungo *S. schenckii* não tinham sido relatadas na esporotricose felina, apesar de esse fungo ter sido isolado da medula óssea de gatos com lesões disseminadas em que 11 (n=12) apresentavam acometimento de mucosa nasal (Medeiros et al., 2007). Whittemore e Webb (2007) detectaram osteólise nasal em um cão com esporotricose por meio de tomografia computadorizada. Adicionalmente, observaram uma massa tecidual oclusiva na mucosa da cavidade nasal, composta por plasmócitos e neutrófilos, com ausência de estruturas leveduriformes. Os mesmos autores declaram que provavelmente houve extensão da infecção do plano nasal à sua cavidade neste caso, como também pode ter acontecido aos casos de esporotricose nasal nos felinos avaliados.

A osteomielite, a degeneração de cartilagem e o acometimento de mucosas podem causar lesões irreversíveis, deixando sequelas no animal como dispnéia

após a cura clínica. Esses achados na esporotricose felina reforçam a hipótese de que algumas cepas do fungo presente na epidemia no Rio de Janeiro sejam mais virulentas (Brito et al., 2007).

Estruturas leveduriformes foram mais frequentes nos casos do grupo I, conforme era esperado e descrito na literatura (Dunstan et al., 1986b; Schubach et al., 2003, 2004), por não ter sido realizado tratamento antifúngico e pela menor frequência de granulomas bem organizados. No entanto, a presença e intensidade acentuada de estruturas leveduriformes foram frequentes em gatos do grupo II, apesar do tratamento regular e prolongado com droga de eleição. Ademais, a elevada frequência de estruturas leveduriformes com brotamento em animais do grupo II, mostram que a capacidade de multiplicação do fungo não foi eliminada nem pela resposta imunológica do hospedeiro, mesmo após fagocitose semelhante a Hiruma et al. (1988), nem pelo uso prolongado do medicamento, corroborando com Gremião et al. (2009). Esses resultados demonstram a dificuldade de tratamento desses animais e comprovam a falha terapêutica.

Nos casos avaliados, estruturas leveduriformes também foram visualizadas em um caso refratário com infiltrado inespecífico e em outro caso refratário que não apresentou infiltrado inflamatório, diferente de Miranda et al. (2009) que observaram essas estruturas apenas em infiltrado granulomatoso supurativo na esporotricose canina.

Miranda et al. (2009) observaram a forma de charuto apenas quando a intensidade de elementos fúngicos foi acentuada em cães, como ocorrido na presente avaliação em gatos.

Corpos asteróides não foram observados, semelhante aos relatos em gatos (Dunstan et al., 1986a; Schubach T et al., 2004), contudo já foram descritos em seres humanos (Hirsh; Johnson, 1984b).

Houve predomínio da observação intracelular de organismos fúngicos nos animais sem tratamento avaliados por este estudo. Entretanto, nos casos refratários houve predomínio extracelular, como observado por Schubach T et al. (2004) em animais tratados. Segundo Dunstan et al. (1986a), a localização extracelular foi associada a uma reduzida reação inflamatória, enquanto os elementos intracelulares foram vistos em macrófagos que formavam granulomas posteriormente.

Nesta avaliação, elementos leveduriformes também foram detectados no interior de osteoclastos; uma observação ainda não descrita e que confirma a profundidade da infecção e a associação de alterações histológicas em tecido ósseo ao fungo.

Em outros estudos, a microscopia eletrônica revelou a inexistência de estruturas leveduriformes livres no meio extracelular, que são visualizadas assim à microscopia óptica em camundongos e em seres humanos. Na verdade, essas estruturas estão fagocitadas por neutrófilos (Hiruma et al., 1988, 1992), o que também pode ter ocorrido no presente estudo. Hiruma et al. (1988) associaram tal fato ao reduzido tamanho dessas células, a um período de vida curto e à grande susceptibilidade à degeneração.

Hifas e conídios foram observados neste estudo, sobretudo nos casos refratários. A ocorrência de formas filamentosas pode estar relacionada à presença de lesões em área mais superficial ou de extremidade como o nariz, cuja temperatura e tensão de oxigênio podem ser menores, promovendo condições favoráveis ao desenvolvimento dessas estruturas (Lopes et al., 1992). Elementos fúngicos em fase filamentosa raramente são observados ao exame histopatológico em infecção por *S. schenckii* (Lurie, 1963; Gadelha; Talhari, 1982).

O tratamento antifúngico no presente trabalho não impediu a evolução das lesões e a presença de elementos fúngicos, como descrito por Schubach et al. (2003), apesar da implementação de monoterapia com itraconazol ou a combinação deste com anfotericina B. A administração do medicamento antifúngico pelo proprietário, o número de gatos por domicílio, a dificuldade de contenção desses animais e a não adesão ao tratamento (Schubach T et al., 2004) são fatores que poderiam contribuir para a maior duração da doença e para ocorrência de lesões refratárias. É possível que alterações na biodisponibilidade do fármaco possam estar envolvidas também.

Segundo Bargman (1981), a resposta terapêutica na esporotricose está relacionada à localização e à extensão da infecção. Whittemore e Webb (2007) observaram cura clínica em um cão com lesão intranasal, em que houve regressão de massa tecidual e do processo de lise óssea na cavidade nasal após oito semanas

de tratamento. Entretanto, na rotina de atendimento felino no LAPCLIN-DERMZOO e nos casos avaliados, observa-se que a esporotricose nasal nessa espécie não apresenta bom prognóstico e muitas vezes está relacionada à falência terapêutica, como observado em um caso por Gremião et al. (2009).

7 CONCLUSÕES

- O tratamento antifúngico no presente estudo não impediu a gravidade das lesões e a presença de elementos fúngicos na região nasal dos gatos avaliados.
- Nos casos refratários houve alta frequência de infecção com intensidade acentuada de estruturas leveduriformes sugestivas de *S. schenckii* e ocorrência de brotamentos, mesmo sob ação do medicamento, demonstrando viabilidade do fungo e falha terapêutica.
- A intensidade acentuada do infiltrado inflamatório, a gravidade e a profundidade das lesões associadas a *S. schenckii* na região nasal de ambos os grupos sugerem a elevada virulência do fungo.
- Osteoclastos infectados confirmam a profunda extensão da infecção e a associação de alterações histológicas no tecido ósseo ao fungo.
- Granulomas bem organizados foram mais frequentes nos casos refratários, com redução da intensidade de infecção fúngica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams DO. The granulomatous inflammatory response. A review. *Am J Pathol* 1976; 84(1): 164-91.

Bacha Jr. W, Bacha LM. Atlas colorido de histologia veterinária. São Paulo: Roca; 2003.

Barbee WC, Ewert A, Davidson EM. Animal model of human disease: sporotrichosis. *Am J Pathol* 1977; 86(1): 281-4.

Bargman HB. Sporotrichosis of the nose with spontaneous cure. *Can Med Assoc J* 1981; 124(8): 1027.

Baroni FA, Campos SG, Direito GM. A cat sporotrichosis case. *Rev Bras Med Vet* 1998; 20: 25-7.

Barros MBL, Schubach AO, Francesconi-do-Valle AC, Gutierrez Galhardo MC, Conceição-Silva F, Schubach TMP, et al. Cat-transmitted sporotrichosis epidemic in Rio de Janeiro, Brazil: description of a series of cases. *Clin Infec Dis* 2004; 38(4): 529-35.

Barros MBL, Schubach AO, Galhardo MCG, Schubach TMP, Reis RS, Conceição MJ, et al. Sporotrichosis with widespread cutaneous lesions- a report of 24 cases related to transmission by domestic cats in Rio de Janeiro, Brazil. *Intern J Dermatol* 2003; 42: 677-81.

Barros MBL, Schubach AO, Schubach TMP, Wanke B, Lambert-Passos SR. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. *Epidemiol Infect* 2008; 136(9): 1192-6.

Barros MBL, Schubach TMP, Galhardo MCG, Schubach AO, Monteiro PCF, Reis RS, et al. Sporotrichosis: an emergent zoonosis in Rio de Janeiro. *Mem Inst Osw Cruz* 2001; 96(6): 777-9.

Behmer AO, Tolosa EMC, Freitas-Neto AG. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: EDART; 1976.

Bickley LK, Berman IJ, Hood AF. Fixed cutaneous sporotrichosis: unusual histopathology following intralesional corticosteroid administration. *J Am Acad Dermatol* 1985; 12 (6): 1007-12.

Brito MM, Conceição-Silva F, Morgado FN, Raibolt PS, Schubach A, Schubach TP, et al. Comparison of virulence of different *Sporothrix schenckii* clinical isolates using experimental murine model. *Med Mycol* 2007; 45 (8): 721-9.

Brown R, Weintraub D, Simpson MW. Timber as a source of sporotrichosis infection. In: Sporotrichosis infection on the mines of the Witwatersrand. A symposium. The Transvaal Chamber of Mines, Johannesburg; 1947: 5-33.

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

Carmichael JW. *Chrysosporium* and some others aleuriosporic hyphomycetes. *Can J Bot* 1962; 40: 1137-73.

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

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

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

De Beurmann L, Gougerot H, Vaucher. Sporotrichose expérimentale du chat. *C R Soc Biol* 1909; 66: 338-40.

De Beurmann L, Ramond L. Abscesses sous-cutanés multiples d'origine mycosique. *Ann Dermatol Syphiligr* 1903; 4: 678-85.

Dixon DM, Salkin IF, Duncan RA, Hurd NJ, Haines JH, Kemna ME et al. Isolation and characterization of *Sporothrix schenckii* from clinical and environmental sources associated with the largest U.S. epidemic of sporotrichosis. *J Clin Microbiol* 1991; 29 (6): 1106-13.

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

Dunstan RW, Reimann KA, Langham RF. Feline sporotrichosis. *J Am Vet Med Assoc* 1986b; 189(8): 880-3.

Epstein WL. Cutaneous granulomas. *Int J Dermatol* 1977; 16 (7): 574-9.

Freitas D, Migliano MF, Zani Neto L. Esporotricose: Observação de caso espontâneo em gato doméstico (*F. catus*). Rev Fac Med Vet S Paulo 1956; 5: 601-4.

Freitas DC, Moreno G, Saliba AM, Bottino JA, Mós EN. Esporotricose em cães e gatos. Rev Fac Med Vet S Paulo 1965; 7: 381-7.

Gadelha AR, Talhari S. Demonstração do *Sporothrix schenckii* em cortes histológicos. Med Cutan Ibero Lat Am 1982; 10(6): 355-60.

Getty R. Sisson, Grossman- Anatomia dos Animais Domésticos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1986.

Gremião IDF, Pereira SA, Nascimento Junior A, Figueiredo FB, Silva JN, Paes LP et al. Procedimento operacional padrão para o manejo de gatos com suspeita de esporotricose. Clin vet 2006; (65): 69-70.

Gremião IDF, Schubach TMP, Pereira SA, Rodrigues AM, Chaves AR, Barros MBL. Intralesional amphotericin B in a cat with refractory localised sporotrichosis. J Fel Med Surg 2009; 11(8): 720-3.

Hektoen L, Perkins CF. Refractory subcutaneous abscesses caused by *Sporothrix schenckii*. A new pathogenic fungus. J Exp Med 1900; 55: 77-89.

Hirsh BC, Johnson WC. Concepts of granulomatous inflammation. Int J Dermatol 1984a; 23(2): 90- 100.

Hirsh BC, Johnson WC. Pathology of granulomatous diseases: mixed inflammatory granulomas. Int J Dermatol 1984b; 23(9): 585-97.

Hiruma M, Kawada A, Noda T, Yamazaki M, Ishibashi A. Tissue response in sporotrichosis: light and electron microscopy studies. Mycoses 1992; 35: 35-41.

Hiruma M, Yamaji K, Shimizu H, Ohata H, Kukita A. Ultrastructural study of tissue reaction of mice against *Sporothrix schenckii* infection. Arch Dermatol Res 1988; 280 [Suppl]: S94- 100.

Junqueira LC, Carneiro J. Histologia básica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999.

Kauffman CA. Sporotrichosis. Clin Infect Dis 1999; 29: 231-6.

Kirk MP, Cannon PF, Minter DW, Stalpers JA. Dictionary of the fungi. Cabi publishing; 2008.

Kwon-Chung KJ, Bennet JE. Medical mycology. Philadelphia: Lea e Febiger; 1992.

Larsson CE, Gonçalves MA, Araújo VC, Dagli MLZ, Correa B, Fava Neto C. Esporotricose felina: aspectos clínicos e zoonóticos. Rev Inst Med Trop São Paulo 1989; 31(5): 351-8.

Lei PC, Yoshiike T, Yaguchi H, Ogawa H. Histopathological studies of *Sporothrix schenckii*-inoculated mice. Possible functions of polymorphonuclear leukocytes in normal and immunocompromised (congenitally athymic nude) mice. Mycopathologia 1993; 122(2): 89-93.

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

Lopes JO, Alves SH, Benevenga JP, Regio OR. Filamentous forms of *Sporothrix schenckii* in material from human lesions. J Med Vet Mycol 1992; 30: 403-6.

Lopes JO, Alves SH, Mari CR, Brum LM, Westphalen JB, Altermann MJ et al. Epidemiologia da esporotricose na região central do Rio Grande do Sul. Rev Soc Bras Med Trop 1999, 32(5): 541-5.

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

Lurie HI. Histopathology of sporotrichosis. Notes of the nature of the asteroid body. Arch Pathol 1963; 75: 421-37.

Lutz A, Splendore A. Sobre uma micose observada em homens e ratos. Rev Med S Paulo 1907; 21: 433-50.

MacDonald E, Ewert A, Reitmeyer JC. Reappearance of *Sporothrix schenckii* lesions after administration of solu-medrol to infected cats. Sabouraudia 1980; 18: 295-300.

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

Marques MEA, Coelho KIR, Sotto MN, Bacchi CE. Comparison between histochemical and immunohistochemical methods for diagnosis of sporotrichosis. J Clin Pathol 1992; 45: 1089-93.

Medeiros AD, Wanke B, Cavalcanti MCH, Pereira AS, Gremião IDF, Schubach TMP. Esporotricose Sistêmica em Felinos: Relato de 12 Casos. In: Anais da VII

Conferência Sul Americana de Medicina Veterinária; 2007, ago; Rio de Janeiro, Brasil. Rio de Janeiro: Revista Universidade Rural; 2007. v. 27. p. 259-60.

Miranda LHM, Quintella LP, Santos IB, Menezes RC, Figueiredo FB, Gremião IDF, et al. Histopathology of canine sporotrichosis: a study of 86 cases from Rio de Janeiro (2001-2007). *Mycopathologia* 2009; 168: 79-87.

Miyaji M, Nishimura K. Defensive role of granuloma against *Sporothrix schenckii* infection. *Mycopathologia* 1982; 80: 117-24.

Pereira SA, Passos SRL, Silva JN, Gremião IDF, Figueiredo FB, Teixeira JL et al. Response to azolic antifungal agents for treating feline sporotrichosis. *Vet Rec* 2010; 166: 290-4.

Pereira SA, Schubach TMP, Gremião IDF, Silva DT, Assis N, Figueiredo FB et al. Aspectos terapêuticos da esporotricose felina. *Acta Scientiae Veterinariae* 2009; 37 (4): 311-21.

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

Reed KD, Moore FM, Geiger GE, Stemper ME. Zoonotic transmission of sporotrichosis: case report and review. *Clin Infect Dis* 1993; 16: 384-7.

Rey L. Dicionário de termos técnicos de medicina e saúde. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.

Rippon J. The true pathogenic fungus infections and the opportunistic fungus infections. In: Rippon J, editor. *Medical Mycology - The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycetes*. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1988.

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

Sampaio SAP, Lacaz CS, Almeida FP. Clinical aspects on sporotrichosis in São Paulo. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1954; 9: 391-402.

Schenck BR. On refractory subcutaneous abscesses caused by a fungus possibly related to the sporotricha. *Johns Hopkins Hosp Bull* 1898; 9: 286-90.

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

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

Schubach A, Schubach TMP, Barros MBL, Wanke B. Cat-transmitted sporotrichosis, Rio de Janeiro, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2005b; 11(12): 1952-4.

Schubach AO, Schubach TMP, Barros MBL, Wanke B. Esporotricose. In: Coura JR, organizador. *Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

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

Schubach TMP, Schubach AO, Okamoto T, Barros MBL, Figueiredo FB, 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* 2006; 44(1): 87-92.

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

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

Schubach TMP, Valle A, Gutierrez-Galhardo M, Monteiro PCF, Reis RS, Zancopé-Oliveira RM, et al. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the nails of domestic cats (*Felis catus*). *Med Mycol* 2001; 39(1): 147-9.

Shinogi T, Misago N, Narisawa Y. Cutaneous sporotrichosis with refractory and reinfectious lesions in a healthy female. *J Dermatol* 2004; 31(6): 492-6.

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

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

Werner RE Jr, Levine BG, Kaplan W, Hall WC, Nilles BJ, O'Rourke MD. Sporotrichosis in a cat. *J Am Vet Med Assoc* 1971; 159(4): 407-11.

White SD. Diseases of the nasal planum. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1994; 24(5): 887-95.

Whittemore JC, Webb CB. Successful treatment of nasal sporotrichosis in a dog. *Can Vet J* 2007; 48(4):411-4.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO¹

INSTITUIÇÃO: INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS / IPEC – FIOCRUZ

Coordenador da Pesquisa: **Rodrigo Caldas Menezes**

Endereço: Avenida Brasil, 4365 – Manguinhos – Rio de Janeiro / RJ – CEP 21045-900

Telefone (0XX21) **3865-9536**

Nome do Projeto: **Alterações anatomopatológicas na região nasal de gatos domésticos com esporotricose: lesões sem tratamento e lesões refratárias.**

Nome do paciente: _____ Prontuário: _____

Nome do responsável: _____

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

- Avaliar o tecido da região nasal onde há lesão, relacionada ao fungo causador da esporotricose felina para verificar alterações que poderiam dificultar a ação dos medicamentos contra o fungo.

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

A participação de seu gato é voluntária e você poderá recusar-se a permitir a participação dele, sem que isso venha a lhe causar constrangimento ou penalidade por parte da Instituição, bem como está garantido o atendimento de rotina no LapClin-Dermzoo.

Serão realizadas fotografias durante a consulta para avaliação do quadro clínico. O exame clínico, os procedimentos e as medicações contra o fungo serão oferecidos de forma gratuita pela Instituição.

Os resultados desse estudo poderão ou não beneficiá-los de uma forma indireta, mas no futuro poderão beneficiar outros animais e pessoas com a mesma doença.

Os resultados dessa pesquisa serão publicados, preservando o anonimato das informações.

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

¹ 1ª via: responsável pelo paciente 2ª via: prontuário do paciente

Procedimentos, exames e testes que poderão ser utilizados:

Primeiramente haverá perguntas a respeito da doença do seu gato e exame clínico geral. Seu animal será sedado para coleta de material biológico da região nasal onde há lesão, por meio de biopsia.

Poderá haver armazenamento do material coletado para repetição de exames e para avaliação por estudos futuros envolvendo questões sobre a doença ou o desenvolvimento de novas técnicas. As amostras serão armazenadas por um período de aproximadamente cinco anos.

Todos os animais terão direito a acompanhamento no LapClin-Dermzoo após o término do projeto caso necessário.

Inconvenientes e riscos principais conhecidos atualmente:

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

Após a coleta do material para biopsia, em alguns casos poderá ocorrer inflamação e infecção por bactérias. Caso isso ocorra, serão receitados os medicamentos apropriados.

Benefícios esperados:

Espera-se que ao final do estudo exista uma grande quantidade de informações capazes de contribuir para a melhoria do tratamento de outros animais, colaborando para o controle da doença.

Em caso de possíveis dúvidas ou necessidade de informações sobre o seu animal, você deverá entrar em contato com a equipe de médicos veterinários do LapClin-Dermzoo.

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

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

Nome responsável pelo gato _____ Data _____

Nome médico veterinário _____ Data _____

Nome testemunha _____ Data _____

Dissertação de mestrado- Maíra Cavalcanti

Nome do gato:

Prontuário:

Nº da lâmina:

Achados histopatológicos	Ponte						Plano		
	Epiderme	Derme	Subcutâneo	Vestíbulo	Concha	Ossos	Epiderme	Derme	Subcutâneo
Infl.granulomatosa supurativa									
Infl.granulomatosa não-supurativa									
Infl. inespecífica									
Infiltrado difuso									
Infiltr. nodular									
Infiltr.intersticial									
Infiltr.perivascular									
Infiltr.perifolicular									
Granulomas bem-organizados									
Granulomas mal-organizados									
Macrófagos									
Neutrófilos									
Plasmócitos									
Linfócitos									
Células epitelióides									
Eosinófilos									
Mastócitos									
Células gigantes									
Edema									
Microabscesso									
Necrose									
Destruição de colágeno									
Destruição de glândulas									
Úlcera									
Fibrose									
Hemorragia									
Hiperplasia									
*EL redondas ou ovais									
*EL em forma de charuto									
Brotamento									
*EL Intracelulares									
*EL Extracelulares									

Infiltrado celular: (LM)= LEVE A MODERADO; (A)= ACENTUADO; (a)= AUSENTE

*Estruturas Leveduriformes (EL)

Apêndice C– Ficha de avaliação histopatológica por PAS e Grocott

Achados histopatológicos	Ponte						Plano		
	Epiderme	Derme	Subcutâneo	Vestíbulo	Concha	Ossos	Epiderme	Derme	Subcutâneo
*EL Redondas ou ovais									
*EL em forma de charuto									
Brotamento									
Corpos asteróides									
Hifas									
Conídios									
*EL Extracelulares									
*EL Intracelulares									
*EL dentro de granulomas bem organizados									
*EL dentro de granulomas supurativos									
*EL dentro de microabscessos									
*EL dentro de macrófagos									
*EL dentro de células gigantes									
*EL dentro de polimorfonucleares									
Nº de Leveduras									

Intensidade de *EL/ Grocott: (LM)= LEVE A MODERADA; (A)= ACENTUADO; (a)= AUSENTE

*EL= Estruturas Leveduriformes (Sugestivas de *S. schenckii*)

OBSERVAÇÕES	
Ponte Nasal	Epiderme:
	Derme superficial:
	Derme profunda:
	Tecido subcutâneo:
	Tecido muscular subjacente:
Conchas	
Vestíbulo	Cartilagem: Lâmina própria:
Tecido ósseo	Mucosa respiratória:
	Medula óssea:
Mucosa respiratória	
Plano Nasal	Epiderme:
	Derme superficial:
	Derme profunda e tecido subcutâneo:
Observações gerais	

APÊNDICE D_ Questionário para preenchimento do banco de dados Epidata



Questionário para Epidata: gatos com esporotricose nasal

[Maíra Cavalcanti]

Número da lâmina:

A. Identificação

q1. Nome do gato:	q2. Prontuário:
q3. Nome do proprietário:	
q4. Data do primeiro atendimento: ____/____/____	q5. Data da realização de biopsia ou necropsia: ____/____/____
q6. Idade no primeiro atendimento (semanas):	
q7. Sexo 1.() Masculino, 2.() Feminino	q8. Castrado 1.() Sim, 2.() Não
q9. Município:	q10. Telefone:

B. Informações clínicas e epidemiológicas

q11. Tempo de duração das lesões (semanas):	q12. Estado Geral inicial 1.() Bom, 2.() Regular, 3.() Péssimo, 4.() Ignorado	q13. Classificação L para lesões 1.() L0, 2.() L1, 3.() L2, 4.() L3
q14. Características das lesões nasais na 1ª consulta q14a.() Úlcera q14b.() Nódulo q14c.() Tumoração q14d.() Oclusão	q15 Sinais extracutâneos respiratórios q15a.() Dispnéia q15b.() Espirros q15c.() Tosse q15d.() Secreção nasal	q16. Isolamento de <i>S. schenckii</i> em cultivo, por Swab 1.() Positivo, 2.() Negativo
q17. Isolamento de <i>S. schenckii</i> em cultivo, por biopsia nasal 1.() Positivo, 2.() Negativo	q18. Uso de Cetoconazol 1.() Sim, 2.() Não	q19. Tempo total de uso de Cetoconazol (semanas):

q20. Uso de Itraconazol 1.()Sim, 2.()Não	q21. Tempo total de uso de Itraconazol (semanas):	q22. Uso de Anfotericina B 1.()Sim, 2.()Não
q23. Número de sessões de aplicação de Anfotericina B:	q24. Tempo total de tratamento (semanas):	q25. Procedimento para histopatologia 1.()Biopsia, 2.()Necropsia

C. Leitura por HE

q26. Inflamação 1.()Granulomatosa supurativa 2.()Granulomatosa não-supurativa 3.()Inespecífica	q27. Infiltrado granulomatoso 1.()Difuso 2.()Nodular 3.()Intersticial	q28. Intensidade de Macrófagos 1.()Leve a moderada, 2.()Acentuada, 3.()Ausente
q29. Intensidade de Neutrófilos 1.()Leve a moderada 2.()Acentuada 3.()Ausente	q30. Intensidade de Plasmócitos 1.()Leve a moderada 2.()Acentuada 3.()Ausente	q31. Intensidade de Linfócitos 1.()Leve a moderada 2.()Acentuada 3.()Ausente
q32. Intensidade de Células epitelióides 1.()Leve a moderada 2.()Acentuada 3.()Ausente	q33. Intensidade de Eosinófilos 1.()Leve a moderada 2.()Acentuada 3.()Ausente	q34. Intensidade de Mastócitos 1.()Leve a moderada 2.()Acentuada 3.()Ausente
q35. Intensidade de Células gigantes 1.()Leve a moderada 2.()Acentuada 3.()Ausente	q36. Granulomas bem-organizados 1.()Presentes, 2.()Ausentes	q37. Granulomas mal-organizados 1.()Presentes, 2.()Ausentes
q38.SMF predominante 1.() Macrófagos, 2.()Células epitelióides	q39. Intensidade do infiltrado geral 1.()Leve a moderada 2.()Acentuada 3.()Ausente	q40. Microabscesso 1.()Presente, 2.()Ausente
q41. Degeneração de colágeno 1.()Presente, 2.()Ausente	q42. Destruição de glândulas 1.()Presente, 2.()Ausente	q43. Úlcera em epiderme 1.()Presente, 2.()Ausente
q44. Úlcera em vestíbulo	q45. Úlcera em mucosa	q46. Fibrose

1.()Presente, 2.()Ausente	respiratória 1.()Presente, 2.()Ausente	1.()Presente, 2.()Ausente
q47. Hemorragia 1.()Presente, 2.()Ausente	q48. Espessamento do vestíbulo 1.()Presente, 2.()Ausente	q49. Espessamento da mucosa respiratória 1.()Presente, 2.()Ausente
q50. Lise óssea 1.()Presente, 2.()Ausente	q51. Hiperplasia da epiderme 1.()Presente, 2.()Ausente	q52. Extensão macro e microscópica das lesões nasais q52a.()Ponte q52e.()Plano q52b.()Vestíbulo q52f.()cartilagem q52c.()Seios q52g.()MR * q52d.()Conchas q52h.()Medula óssea (*Mucosa Respiratória)
q53. Extensão microscópica das lesões nasais q53a.()Derme q53c.() T. muscular q53b.()T.subcutâneo q53d.()T. ósseo		

D. Leitura por Grocott

q54. Estruturas leveduriformes sugestivas 1.()Presentes, 2.()Ausentes	q55. Forma predominante das leveduras a.()Redondas ou ovais b.()Charuto c.() Sem predomínio	q56. Leveduras atípicas 1.()Presentes, 2.()Ausentes
q57. Brotamentos múltiplos 1.()Presentes, 2.()Ausentes	q58. Brotamentos únicos 1.()Presentes, 2.()Ausentes	q59. Hifas 1.()Presentes, 2.()Ausentes
q60. Extensão macro e microscópica do achado de estruturas leveduriformes q60a.()Ponte, q60e.()Plano q60b.()Vestíbulo, q60f.()cartilagem q60c.()Seios, q60g.()muc. respir. q60d.()Conchas, q60h.()Medula óssea	q61. Extensão microscópica do achado de estruturas leveduriformes q61a.()Derme, q61c.() T. muscular q61b.()T.subcutâneo, q61d.()T. ósseo	q62. Intensidade de estruturas leveduriformes 1.()Leve a moderada 2.()Acentuada 3.()Ausente

E. Leitura por PAS

q63. Estruturas leveduriformes sugestivas 1.() Presentes, 2.() Ausentes	q64. Corpos asteróides 1.() Presentes, 2.() Ausentes	q65. Leveduras dentro de granulomas bem organizados 1.() Presentes, 2.() Ausentes
q66. Leveduras em microabscessos 1.() Presentes, 2.() Ausentes	q67. Leveduras em células gigantes 1.() Presentes, 2.() Ausentes	q68. Leveduras em macrófagos 1.() Presentes, 2.() Ausentes
q69. Leveduras em neutrófilos 1.() Presentes, 2.() Ausentes	q70. Leveduras no meio extracelular 1.() Presentes, 2.() Ausentes	
q71. Localização predominante das leveduras a.() Intracelulares b.() Extracelulares c.() Sem predomínio	q72. Extensão micro e macroscópica do achado de estruturas leveduriformes q72a.() Ponte , q72e.() Plano q72b.() Vestíbulo, q72f.() cartilagem q72c.() Seios, q72g.() mucosa respirat. q72d.() Conchas, q72h.() Medula óssea	q73. Extensão microscópica do achado de estruturas leveduriformes q73a.() Derme, q73c.() T. muscular q73b.() Subcutâneo, q73d.() T. ósseo

Anotações complementares:

Preenchido em: ___/___/___