

RAÍZA MONIQUE DA PAIXÃO CARNEIRO

**ACHADOS MICROSCÓPICOS DE ESTRUTURAS LEVEDURIFORMES
EM SANGUE PERIFÉRICO DE CÃO – RELATO DE CASO**

**GARANHUNS – PE
2019**

RAÍZA MONIQUE DA PAIXÃO CARNEIRO

**ACHADOS MICROSCÓPICOS DE ESTRUTURAS LEVEDURIFORMES
EM SANGUE PERIFÉRICO DE CÃO – RELATO DE CASO**

Trabalho de conclusão apresentado ao curso de Medicina Veterinária da Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de graduação em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof.^a Dra. Lucilene Simões Mattos

**GARANHUNS-PE
2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- 289a CARNEIRO, Raíza Monique da Paixão
ACHADOS MICROSCÓPICOS DE ESTRUTURAS LEVEDURIFORMES EM SANGUE PERIFÉRICO DE CÃO :
Relato de caso / Raíza Monique da Paixão CARNEIRO. - 2019.
52 f. : il.
- Orientador: Lucilene Simões .
Coorientador: Talles de Montes Almeida.
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em
Medicina Veterinária, Garanhuns, 2019.
1. Micose sistêmica. 2. Histoplasma capsulatum. 3. Citoquímica. I. , Lucilene Simões, orient. II. Almeida, Talles de
Montes, coorient. III. Título

CDD 636.089

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**ACHADOS MICROSCÓPICOS ESTRUTURAS LEVEDURIFORMES
EM SANGUE PERIFÉRICO DE CÃO – RELATO DE CASO**

Trabalho de Conclusão de Curso elaborado por:

RAÍZA MONIQUE DA PAIXÃO CARNEIRO

Aprovada em **11/12/2019**

BANCA EXAMINADORA

ORIENTADORA: Prof.^a Dra. Lucilene Simões Mattos
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE

Dr. Rinaldo Cavalcante Ferri
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE

M.V. Poliana Nunes da Silva

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS



IDENTIFICAÇÃO DO ESO

I. ESTAGIÁRIO

NOME: Raíza Monique da Paixão Carneiro MATRÍCULA Nº 10908516428

CURSO: Medicina Veterinária PERÍODO LETIVO: 11º

ENDEREÇO PARA CONTATO: Rua Sgt. José Petrócio, Boa vista - Garanhuns- PE.

CEP: 55292-480

FONE: (87) 9 9647-7481

ORIENTADORA: Prof.^a Dra. Lucilene Simões Mattos

II. EMPRESAS/INSTITUIÇÕES

1. LOCAL: Hospital Veterinário Universitário – UAG/UFRPE (Setor de Patologia Clínica)

Endereço: Avenida Bom Pastor, s/n - Boa Vista.

CIDADE: Garanhuns-PE

CEP: 55292-270

FONE: (87) 3764-5586

SUPERVISOR: M.V., MSc., Esp., Talles de Montes Almeida

FORMAÇÃO: Médico Veterinário

2. LOCAL: Hospital Veterinário Universitário – UAG/UFRPE (Setor de Clínica Médica)

Endereço: Avenida Bom Pastor, s/n - Boa Vista.

CIDADE: Garanhuns-PE

CEP: 55292-270

FONE: (87) 3764-5586

SUPERVISOR: Dr. Rinaldo Cavalcante Ferri

FORMAÇÃO: Médico Veterinário

III. FREQUÊNCIA

1. INÍCIO E TÉRMINO DO ESTÁGIO: 01/08/2019 à 13/09/2019

TOTAL DE HORAS: 163 horas.

2. INÍCIO E TÉRMINO DO ESTÁGIO: 16/09/2019 à 31/10/2019

TOTAL DE HORAS: 242 horas.

IV. CARGA HORÁRIA TOTAL: 405 horas.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, a minha mainha, que é o meu amor e minha vida todinha.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por todo o amor, por me dar colo e por toda paciência que teve comigo durante minha vida toda e especialmente durante o final da minha graduação que foi tão difícil.

A minha mainha, Renata Paixão, que é o amor da minha vida, que me fez ser quem sou que me ensinou tudo o que sei, por ser a mulher mais forte que eu já conheci, por fazer de tudo por mim e meus irmãos. Obrigado por minha vida, eu te amo mais que tudo.

Ao meu pai, José Lima, por todo amor, apoio, força, compreensão, caráter e por ter me proporcionado educação. Eu amo você.

Aos meus irmãos, Renara Paixão e Pedro Henrique por toda força, apoio e amor do jeitinho deles.

A Dona Edileuza (in memoriam), que foi a vó que nunca tive e sempre me ajudou em tudo, é uma pena a Senhora não está aqui pra ver essa conquista.

Aos meus filhos que tornaram essa caminhada um pouco mais leve, Apollo, Ares, Arya (in memoriam), Athena, Aurora, Nina, Bela, Safira e Maria.

Aos meus irmãos de quatro patas, que me fizeram querer a veterinária, Joe e Jonny (in memoriam) eu amo vocês para sempre.

A minha orientadora Prof.^a Dra. Lucilene Simões Mattos, por ser tão maravilhosa sempre, ter tanta paciência comigo, me ensinar tanto e acima de tudo ser uma amiga.

Ao Dr. Talles Montes, que me ensinou tanto em tão pouco tempo, que me deu toda atenção, sempre me atendeu com todo o carinho, teve a maior paciência do mundo comigo e foi o melhor coorientador do mundo. Obrigada por tudo.

A Aldizio Alencar que teve muita paciência em me ensinar como o laboratório funcionava, e fez e refez lâmina comigo.

Ao Dr. Rinaldo Ferri, que sempre tirou todas as minhas dúvidas, que me acompanhou no período do meu ESO, que me tirou boas risadas, que sempre foi tão atencioso e carinhoso comigo. Obrigado por ser essa “caixa” de conhecimento e dividi comigo um pouco dele, sorte minha ter o Senhor como supervisor e amigo.

Ao Dr. Breno Menezes, que me aguentou nos pavi's. Obrigada por sua paciência, bom humor e carinho.

A professora Anamélia Sales, que sempre me ajudou em todos os problemas na faculdade, sempre teve uma palavra e um ombro amigo, muito obrigada.

Ao professor Almir Chalegre, por sempre me receber no hospital em todos meus estágios, e desde o primeiro período sempre me ajudar com as burocracias da universidade, o senhor é um ser de luz.

Aos meus queridos professores, Jairo Macedo, Daniela Oliveira, Lucilene Simões, Luciano Souza, Fernanda Henrique, Gustavo Ferrer, Rubens Horn, Zé Claudio, Marcos Franque e Taciana Ramalho. Vocês são exemplos de professores, por nos fazer querer aprender e nos passar de forma tão clara um pouco de tudo que sabem. E a todos os outros que passaram por mim na graduação e deixaram um pouquinho de si. Meu muito obrigada.

A Rafaela Queiroz, que eu tive a sorte de conhecer (encontro de almas), me deu força nos momentos mais difíceis da minha vida. Amiga obrigada por tudo, obrigada por não desistir de mim, eu amo você.

A Mery Rodrigues, por me aguentar nas crises e por sempre estar comigo em todos os momentos. Tu és maravilhosa e vai ter muito sucesso. Amo você.

A Vanessa Oliveira, que nesses últimos anos, foi minha amiga de farra, estudos, faculdade, choros, risos, de vida. Só quem te conhece sabe o coração que você tem, obrigada por tudo. Amo você.

A Maria Docarmo, por ter sido uma grande amiga neste período de curso, muito obrigada.

Aos amigos que o curso me deu Bruna Fárias, Kelvyn Siqueira, Jorge Almeida, Rafael Marques, Lucas Cavalcante e Henrique Lima. Obrigada por todo o apoio e carinho nessa longa jornada.

Enfim obrigada a todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a minha formação.

Grata!

Epígrafe

“É impossível viver sem cometer algum erro, a não ser que você viva de forma tão prudente que é possível que acabe não vivendo nada”.

J.K. Rowling

RESUMO

O diagnóstico de infecção fúngica em animais humanos e não humanos não é uma das tarefas mais fáceis de se realizar. Um diagnóstico laboratorial preciso e rápido é primordial para se adotar a terapêutica específica e obter sucesso na cura do paciente com suspeita clínica de micose sistêmica ou local. As técnicas citoquímicas de material biológico podem ser submetidas à diferentes colorações, algumas se comportando como importantes para uma triagem, outras, mais especiais, são direcionadas às suspeitas dos diferentes gêneros de fungos em diagnósticos presuntivos ou assertivos. Relata-se aqui um caso de achados microscópicos de estruturas leveduriformes por citoquímica em sangue periférico de cão com suspeita clínica de micose sistêmica. Cão macho, da raça poodle, mais ou menos seis anos de idade, exibindo apatia, anorexia, tremores em região lombar, constipação, polidipsia, urina alaranjada e quadro convulsivo. Posteriormente, estupor e óbito duas horas após ao atendimento. As suspeitas clínicas iniciais foram de hemoparasitoses (Babesiose, Eriquiose e Leishmaniose Visceral) porém, após exames específicos, foram descartadas como etiologias primárias. Porém, esfregaços em lâminas corados por, primeiramente, panótico-rápido e, após indícios da presença de fungos, os esfregaços também foram submetidos à duas colorações especiais (Gomori-Grocott e PAS), o que confirmou a presença de pequenas estruturas compatíveis com *Histoplasma capsulatum*. A associação da citoquímica aos achados clínicos-hematológicos permitiram afirmar que o animal apresentou uma micose sistêmica, sugerindo ser pelo agente *Histoplasma capsulatum*. Porém, o diagnóstico definitivo só poderia ser conclusivo através da cultura fúngica ou PCR.

Palavras-chave: Micose sistêmica; *Histoplasma capsulatum*; Citoquímica.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fachada do Hospital veterinário da UFRRPE-UAG.....	16
Figura 2. Consultório de atendimento clínico do HVU-UAG.....	17
Figura 3. Sala de fluidoterapia.....	18
Figura 4. Setor de patologia clínica.....	18
Figura 5. Bloco cirúrgico.....	19
Figura 6. Eletrocardiograma realizado no HVU.....	21
Figura 7. Formas leveduriformes do <i>Histoplasma capsulatum</i> em seção tecidual, corados pela prata (Gomori-Grocott, 400x.....	28
Figura 8. Macrófago grande (seta) contendo vários organismos de <i>H. capsulatum</i> corados pela wright's giemsa, 100x.....	29
Figura 9. Processo inflamatório piogranulomatoso. Com presença de macrófagos (seta) e neutrófilos degenerados (cabeça de seta). Numerosas estruturas leveduriformes (asteriscos) de aspecto pleomórfico intra e extracelular sugestivo de infecção por <i>S. schenckii</i> . Lâmina confeccionada a partir de lesão exsudativa em um felino. (Panótico rápido, 100x).....	31
Figura 10. <i>Cryptococcus</i> em tecido pulmonar corado com Grocott (GMS).....	33
Figura 11. Esfregaço sanguíneo corado com a técnica do panótico rápido. A- As setas mostram fagócitos contendo várias estruturas leveduriformes de arredondadas a levemente ovaladas intracelular, objetiva de imersão de 100x. B- Maior ampliação, onde é possível observar estruturas arredondadas com ausência de cinetócoro e núcleo excêntrico, compatíveis com microrganismos leveduriformes, objetiva de imersão de 100x. C- Presença de estruturas arredondadas com ausência de cinetócoro e núcleo excêntrico intracelular, compatíveis com microrganismos leveduriformes D- Presença de pequena estrutura leveduriforme dentro de fagócito. E- É possível observar essas mesmas estruturas descritas anteriormente em fundo de lâmina. F- Presença de pequena estrutura leveduriforme dentro de monócito.....	39
Figura 12. Esfregaço sanguíneo corado com a técnica Gomori-Grocott, a técnica impregna pela prata a parede celular do fungo, constituída por carboidratos complexos tornando-a enegrecida. A e B- presença de estruturas arredondadas a levemente ovaladas, enegrecidas dentro de células sugestivamente neutrófilos, C- Presença de uma única estrutura leveduriforme dentro de um fagócito. D- Fungos mostram notável regularidade, aparecem como leveduras pequenas, redondas ou levemente ovaladas, formando cachos ao fundo de lâmina, objetiva de 100x. E e F- Mostram estruturas leveduriformes em cachos intracelular e extracelular, objetiva de imersão de 100x.....	40

Figura 13. Esfregaço sanguíneo corado com a técnica de PAS. A, B, C, D, E e F- demonstram fagócitos em circulação periférica exibindo estruturas levemente arredondadas, discretamente acidófilas intracitoplasmática, objetiva de imersão de 100x.....41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporção de espécies atendidas no setor de patologia clínica do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns.....	20
Tabela 2. Procedimentos acompanhados no setor de Patologia Clínica do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns.....	20
Tabela 3. Frequência de animais atendidos no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns.....	22
Tabela 4. Casuística de caninos acompanhados no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns.....	22
Tabela 5. Casuística de felinos acompanhados no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns.....	23
Tabela 6. Frequência de eletrocardiogramas realizados nos animais atendidos no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns.....	24
Tabela 7. Resultados obtidos da série eritrocitária do hemograma de um cão poodle, de 6 anos de idade.....	37
Tabela 8. Resultados obtidos da série leucocitária do hemograma de um cão poodle, de 6 anos de idade.....	37
Tabela 9. Resultados da série plaquetária do hemograma de um cão poodle, de 6 anos de idade.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

µm – Micrometro

PAS – Ácido periódico de Schiff

PPT – proteínas plasmática totais

PCR – Polymerase Chain Reaction

SUMÁRIO

Capítulo I – Descrição do local do ESO e atividades realizadas	16
1. LOCAL DE ESTÁGIO E CARACTERÍSTICAS	16
2. HVU	16
2.1 Atividades desenvolvidas no setor de patologia clínica.....	19
2.2 Atividades desenvolvidas no setor de clínica médica Erro! Indicador não definido.	
Capítulo II – Relato de caso.....	25
1 INTRODUÇÃO	25
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	27
2.1 Características gerais dos fungos	27
2.2 Características gerais das leveduras.....	27
2.3 <i>Histoplasma capsulatum</i>.....	28
2.4 <i>Sporothrix schenckii</i>.....	30
2.5 <i>Cryptococcus neoformans</i>	32
2.6 Métodos diagnósticos.....	33
3. RELATO DE CASO.....	36
4. DISCUSSÃO	42
5. CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS	45

CAPÍTULO I – DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESO E ATIVIDADES REALIZADAS

1 LOCAL DE ESTÁGIO E CARACTERÍSTICAS

O estágio obrigatório supervisionado (ESO), foi realizada no Hospital Veterinário Universitário – Unidade Acadêmica de Garanhuns (HVU/UAG), sendo dividido em duas etapas. A primeira parte, de 01 de agosto a 13 de setembro de 2019 foi realizado no setor de patologia clínica, localizada na cidade de Garanhuns/PE, sob supervisão do Dr. Talles Monte de Almeida. A segunda foi realizada de 16 de setembro a 31 de outubro de 2019 no Hospital Veterinário Universitário – Unidade Acadêmica de Garanhuns (HVU/UAG), no setor de clínica médica, situado na cidade de Garanhuns/PE, sob supervisão do Dr. Rinaldo Cavalcante Ferri. Orientada pela Prof.^a Dr.^a Lucilene Simões Mattos.

2 HOSPITAL VETERINÁRIO UNIVERSITÁRIO – UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS

O hospital veterinário universitário (HVU) da UFRPE-UAG foi fundado em 2016 e está localizado no endereço Avenida Bom Pastor, S/N, Bairro Boa vista, Garanhuns, Pernambuco (Figura 1).



Figura 1. Fachada do Hospital veterinário da UFRPE-UAG
Fonte: arquivo pessoal (2019).

O HVU é um hospital escola com atendimento voltado aos animais da população de Garanhuns e região, em que são atendidos cerca de 300 animais por mês, dentre eles, cães, gatos

e animais silvestres e exóticos. É uma instituição onde técnicos, professores e alunos desenvolvem atividades de pesquisa, ensino e extensão, colocando em prática conhecimentos adquiridos teoricamente na universidade.

O hospital oferece atendimentos na área de clínica médica e cirúrgica de pequenos animais, clínica médica e cirúrgica de animais silvestres e exóticos, além da área de patologia clínica. Ademais, oferece, também, exames complementares como ultrassonografia, radiografia e eletrocardiograma.

Os atendimentos são realizados por ordem de chegada, sendo disponibilizadas oito vagas pela manhã e oito à tarde, com exceção da sexta-feira em que são oferecidas oito vagas pela manhã e quatro pela tarde, devido à realização dos eletrocardiogramas neste turno. Os atendimentos a animais silvestres e exóticos, assim como procedimentos cirúrgicos, são realizados por agendamento.

O espaço é composto por uma recepção, uma farmácia, três salas de atendimento clínico (figura 2), uma sala de fluidoterapia (figura 3), um laboratório de patologia clínica (figura 4), uma sala de ultrassonografia, sala de radiografia e um bloco cirúrgico (figura 5), que conta com sala de pré e pós-operatório, vestiários, sala de antissepsia, sala de esterilização e duas salas cirúrgicas.



Figura 2. Consultório de atendimento clínico do HVU-UAG.

Fonte: arquivo pessoal (2019).



Figura 3. Sala de fluidoterapia.
Fonte: arquivo pessoal (2019).



Figura 4. Setor de patologia clínica.
Fonte: arquivo pessoal (2019).



Figura 5. Bloco cirúrgico.

Fonte: arquivo pessoal (2019).

Seu quadro de funcionários é formado por dois veterinários, responsáveis pelo atendimento clínico de pequenos animais, um farmacêutico e uma auxiliar, um patologista clínico, um cirurgião, um anesthesiologista, além da parte administrativa e funcionários responsáveis pela limpeza.

É possível ter acesso ao hospital veterinário através do Programa de Atividades de Vivência Interdisciplinar (PAVI), que abre vagas todo semestre, onde os alunos da UAG tem acesso ao programa a partir do 3º período de medicina veterinária. Além do PAVI o hospital recebe alunos de estágio supervisionado obrigatório (ESO) da própria instituição e de outras instituições de ensino particulares e/ou públicas.

2.1 Atividades desenvolvidas no setor de patologia clínica

O Hospital Veterinário Universitário funciona de segunda a sexta das 08:00h às 12:00h e das 13:00h às 17:00h. Foi nessa rotina de funcionamento que o ESO foi acompanhado.

Desta forma, no setor de patologia clínica, foi acompanhada a realização de exames complementares como hemograma, PPT, urinálises, citologias, raspados cutâneos, pesquisas de hemoparasitos, teste rápido para leishmaniose visceral canina, parasitológico otológico e análise de efusões.

Os animais atendidos pelos clínicos eram avaliados, passavam pela anamnese, exame físico e coleta de materiais, esses materiais eram encaminhados para o laboratório de Patologia Clínica para que pudesse realizar o processamento, interpretação e elaboração de laudos.

Durante este período de 01 de agosto a 13 de setembro, foram atendidos 174 animais no setor e realizados 338 exames. Dentre as espécies submetidas aos exames é possível observar (tabela 1), uma maior frequência de exames em cães.

Tabela 1. Proporção de espécies atendidas no setor de patologia clínica do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, no período de 01 de agosto a 13 de setembro de 2019.

Espécie	n	%
Canina (<i>Canis lupus familiaris</i>)	124	71,2
Felina (<i>Felis catus</i>)	48	27,6
Canário (<i>Serinus canaria</i>)	1	0,6
Coelho (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	1	0,6
Total	174	100

Na tabela 2 é possível observar o total de procedimentos acompanhados durante o período de ESO. Destacando-se o hemograma e PPT dentre os exames mais realizados no laboratório de patologia clínica.

Tabela 2. Procedimentos acompanhados no setor de Patologia Clínica do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, no período de 01 de agosto a 13 de setembro de 2019.

Procedimento	Total
Análise de efusão	1
Citologia	38
Hemograma	130
PPT	130
Parasitológico otológico	3
Pesquisa de hemoparasitas	2
Raspado cutâneo	8
Teste rápido de leishmaniose	2
Urinalise	24
Total	338

2.2 Atividades desenvolvidas no setor de clínica médica

A segunda parte do estágio foi realizada no HVU no setor de clínica médica de pequenos animais. Os atendimentos ocorriam das 8 às 12 horas e das 13 às 17 horas, não possuindo regime de plantão 24 horas. Não havendo portanto, serviço de internação.

As atividades desenvolvidas no setor envolveram a anamnese, exame físico, coleta de materiais biológicos para exames, administração de medicamentos e realização de eletrocardiogramas.

Para o animal ser atendido, o tutor deve preencher uma ficha com seus dados e aguardar atendimento através de senha. Os casos novos eram triados por uma equipe de estagiários e profissionais através de anamnese e inspeção clínica, e caso necessário, encaminhados para os exames complementares, alguns realizados no próprio HVU, como por exemplo: hemograma, ultrassonografia, citologia e etc.

No período de 16 de setembro a 31 de outubro foram atendidos 183 animais e realizados 31 eletrocardiogramas (tabela 6). Os eletrocardiogramas eram realizados por agendamento, todas as sextas-feiras após os atendimentos clínicos, com um total de 5 vagas semanais.



Figura 6: Eletrocardiograma realizado no HVU.

Fonte: arquivo pessoal (2019).

Entre os animais atendidos no setor de clínica médica neste período, a maior frequência foi de fêmeas da espécie canina, sendo carcinoma mamário a enfermidade mais diagnosticada neste (Tabela 3).

Já na espécie felina, a enfermidade mais diagnosticada foi complexo gengivite-estomatite-felina, seguida das fraturas em geral (tabela 5).

Tabela 3 - Frequência de animais atendidos no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, no período de 16 de setembro a 31 de outubro de 2019.

Espécie	Fêmeas (n)	Machos (n)	%
Canina (<i>Canis lupus familiaris</i>)	87	55	77,59
Felina (<i>Felis catus</i>)	18	23	22,41
Total	105	78	100

Tabela 4 - Casuística de caninos acompanhados no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns no período de 16 de setembro a 31 de outubro de 2019.

Atendimento/Diagnóstico	n	%
Abscessos	2	1,4
Bronquite verminótica	1	0,7
Carcinoma mamário	18	12,67
Cinomose	4	2,81
Cistite	1	0,7
Consulta de rotina	4	2,81
Concussão traumática	1	0,7
Demodicose	3	2,11
Dermatite	9	6,33
Desnutrição	1	0,7
Diabetes	2	1,4
Enterite	9	6,33
Efusão pericárdica	1	0,7
Epitelioma sebáceo	1	0,7
Fraturas	13	9,15
Gestação	4	2,81
Giárdia	2	1,4
Hiperplasia mamária	1	0,7
Hiperplasia endometrial	2	1,4
Hemoparasitoses	10	7,04
Hérnia	4	2,81

Limpoma	3	2,11
Mastocitoma	3	2,11
MMM	2	0,7
Nefropatia	3	2,11
Oftalmopatia	6	4,22
Otite	4	2,81
Otocaríase	1	0,7
Otohematoma	2	1,4
Papilomatose	2	1,4
Parvovirose	1	0,7
Piodermite	7	4,9
Piometra	1	0,7
Pseudociese	2	1,4
Sarna sarcóptica	2	1,4
Traqueíte	3	2,11
TVT	5	3,52
Tosse dos canis	1	0,7
Urolitíase	1	0,7
Vaginite	1	0,7
Total	142	100

Tabela 5 - Casuística de felinos acompanhados no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns no período de 16 de setembro a 31 de outubro de 2019.

Atendimento/Diagnóstico	Número de casos	%
Abscessos	2	4,88
Balanopostite	1	2,43
Cistite	3	7,32
Complexo estomatite gengivite felina	6	14,64
Desnutrição	1	2,43
DTUI	4	9,77
Enterite	2	4,88
Fraturas	6	14,64
Gestação	4	9,77
Giárdia	1	2,43
Hiperplasia mamária	1	2,43
Hiperplasia endometrial	2	4,88
Hemoparasitoses	1	2,43

Intussuscepção intestinal	1	2,43
Nefropatia	2	4,88
Otocaríase	2	4,88
Piodermite	2	4,88
Total	41	100

Tabela 6: Frequência de eletrocardiogramas realizados nos animais atendidos no setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, no período de 16 de setembro a 31 de outubro de 2019.

Espécie	n	%
Canina (<i>Canis lupus familiaris</i>)	30	96,77
Felina (<i>Felis catus</i>)	1	3,23
Total	31	100

CAPÍTULO II – RELATO DE CASO

PRESENÇA DE PEQUENAS ESTRUTURAS LEVEDURIFORMES EM SANGUE PERIFÉRICO DE CÃO

1 INTRODUÇÃO

O diagnóstico de infecção fúngica em animais humanos e não humanos não é uma das tarefas mais fáceis de se realizar. Um diagnóstico laboratorial preciso e rápido é primordial para se adotar a terapêutica específica e obter sucesso na cura do paciente com suspeita clínica de micose sistêmica ou local. De maneira geral, segundo Koezel e Wickes (2014), as abordagens tradicionais para o diagnóstico laboratorial micológico incluem exame microscópico direto de amostras clínicas, histopatologia, cultivo, sorologia e as técnicas ditas emergentes tais como as moleculares incluindo a PCR e detecção de antígenos nas amostras teciduais.

Apesar deste espectro relativamente grande de métodos diagnósticos disponíveis nos laboratórios de patologia e/ou micologia em todo o mundo, as sensibilidade e especificidade de cada método dependem de uma gama de fatores tais como imunidade do paciente, possíveis contaminações do material, tecido fonte de coleta, tratamento prévio, entre outros. Além destas limitações, em medicina veterinária, por exemplo, ainda é incipiente a prática laboratorial bem como a formação médica veterinária em micologia, o que, por muitas vezes, torna necessário a busca por laboratórios de medicina humana. Ademais, normalmente, estes laboratórios estão situados nos grandes centros, distantes do interior do Estado, o que corrobora na dificuldade do diagnóstico acurado por problemas no tocante à aquisição de meios para acondicionamento de forma correta do material biológico bem como dificuldades no transporte aos laboratórios de referência podendo levar a intercorrências que prejudiquem o diagnóstico efetivo.

Desta forma, na prática clínica veterinária, principalmente no interior do Estado, às vezes lança-se mão do recurso disponível para o momento, o que nem sempre é condizente com a precisão diagnóstica necessária para a confirmação da suspeita clínica primária. Ademais, o tutor de animais de companhia, por razões diversas, nem sempre está disposto a contribuir com a realização das técnicas laboratoriais necessárias ao clínico veterinário para estabelecer o diagnóstico preciso e implantar a terapêutica específica para o caso. Se esta é uma realidade para outras infecções com maiores recursos diagnósticos, no caso de fungos este fator é um complicador. Assim, técnicas de baixo custo e rápidas na realização de diagnóstico laboratorial,

não só são factíveis como também, por boa ventura, podem se comportar como método de triagem para, caso necessário, sejam submetidas amostras a outros laboratórios que amparem a suspeita. Dentre as técnicas de triagem de possível realização em condições como as citadas anteriormente estão as citoquímicas de material biológico como sangue, escarro e fluidos, porém também requerem colorações especiais direcionadas aos diferentes gêneros de fungos e leveduras bem como de capacitação do profissional para diagnósticos presuntivos ou assertivos.

Diante do exposto, relata-se um caso de achados microscópicos de estruturas leveduriformes por citoquímica em sangue periférico de cão com suspeita clínica de micose sistêmica atendido no Hospital Veterinária Universitário (HVU) da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG) da UFRPE.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Nesta seção, serão abordadas algumas características dos fungos alvos deste trabalho, principalmente de suas manifestações clínicas em cães bem como os meios de diagnóstico laboratoriais dos mesmos. Trata-se de grande relevância salientar que estes três microrganismos são responsáveis por doenças potencialmente zoonóticas.

2.1 Características gerais dos fungos

Fungos são seres eucariotos, heterotróficos e ubíquos, podendo subsistir no solo, água e vegetação, ou em relações de comensalismo/parasitismo com plantas e animais (Almeida, 2008). Embora sejam estimados em mais de 100 mil espécies fúngicas, apenas cerca de 300 são capazes de causar infecções em animais (Scott et al., 2001; Sidrim & Rocha, 2004).

Em razão da maior incidência de micoses sistêmicas nas últimas décadas, devido principalmente a crescente utilização de terapias imunossupressivas e o aparecimento de infecções retrovirais, a relevância clínica do reino Fungi vem aumentando gradativamente (Guillot, 1999; Romani, 2004).

Os fungos dimórficos são os que mais se destacam, dentre os de importância médica, os quais são responsáveis pela maioria das infecções sistêmicas em humanos e outros mamíferos e apresentam a notável capacidade de transitar entre duas formas (levedura e micélio) (Rooney & Klein, 2002; Klein & Tebbets, 2007).

2.2 Características gerais das leveduras

As leveduras são microrganismos (fungos) geralmente unicelulares, heterotróficos, de tamanho de 1-5 μm de diâmetro a 5-30 μm de comprimento, forma oval a esférica e pertencentes ao domínio eucariota. Em geral, encontram-se em habitat úmido e rico em matéria orgânica, possuem membrana citoplasmática lipoprotéica que, regula as trocas com o meio ambiente e uma parede rígida, constituída principalmente por manana e glucana (ambos sacarídeos), além de proteínas e lipídeos. No citoplasma, além dos componentes normais, encontramos um ou mais vacúolos, mitocôndrias, retículo citoplasmático, ribossomos e, frequentemente, grânulos de material de reserva (hidratos de carbono, gorduras e proteínas). O núcleo é envolvido por uma membrana nuclear, característica dos organismos eucarióticos (Nitzke & Biedrzycki, 2017).

Sua reprodução é assexuada por brotamento e algumas espécies podem formar pseudohifas (cadeia de leveduras formada após várias reproduções por brotamento). Alguns fungos existem na forma de leveduras e outros na forma de hifas (filamentos). Poucos deles,

chamados de dimórficos, podem existir nas duas formas, dependendo da temperatura. Esta variabilidade na morfologia é particularmente característica de alguns tipos de fungos patogênicos (Perdoncini, 2013).

Vários tipos de leveduras e fungos dimórficos patogênicos podem infectar cães, causando micoses (locais ou sistêmicas). Dentre eles, os que se destacam em nossa região, possuindo grande similaridade morfológica, epidemiológica e impacto clínico são: *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii* e o *Cryptococcus neoformans*.

2.3 *Histoplasma capsulatum*

O *Histoplasma capsulatum* é um fungo patogênico, saprófita, dimórfico e endêmico em regiões com elevada umidade e índice pluviométrico. No ambiente se apresenta sob forma filamentosa, apresentando crescimento lento de suas colônias, com textura algodosa e coloração de branco a creme, tendendo a escurecer com o tempo (Kauffman, 2007).

No organismo do hospedeiro, o *H. capsulatum* adquire forma de pequenas células leveduriformes, com cerca de 1 a 5 µm de diâmetro, ovaladas e frequentemente apresentam gemulação única (Ferreira; Borges, 2009).

Esse microrganismo está presente em solos úmidos e ricos em compostos nitrogenados, derivados de matéria orgânica em decomposição, sobretudo excretas de morcegos e aves, seja em locais abertos ou em cavernas. Sua propagação e viabilidade podem perdurar por vários anos, desde que em regiões que possuam o pH do solo ácido (entre 5 e 10), médias de temperatura mais baixas e elevada umidade relativa do ar (Clinkenbeard et al., 1987).

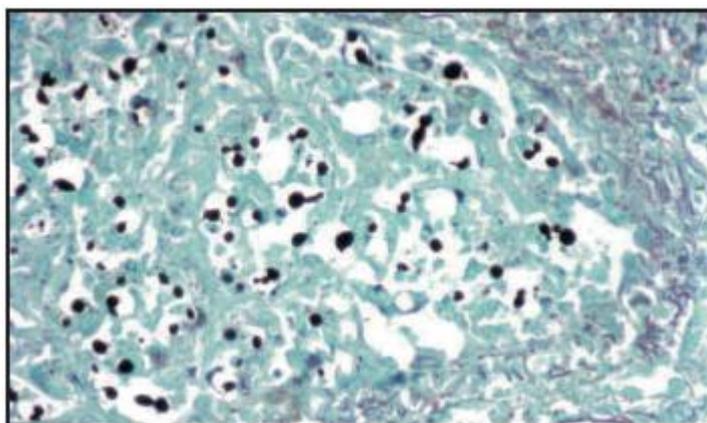


Figura 7. Formas leveduriformes do *Histoplasma capsulatum* em seção tecidual, corados pela prata (Gomori-Grocott, 400x). Fonte: Ferreira;Borges (2009, p.193)

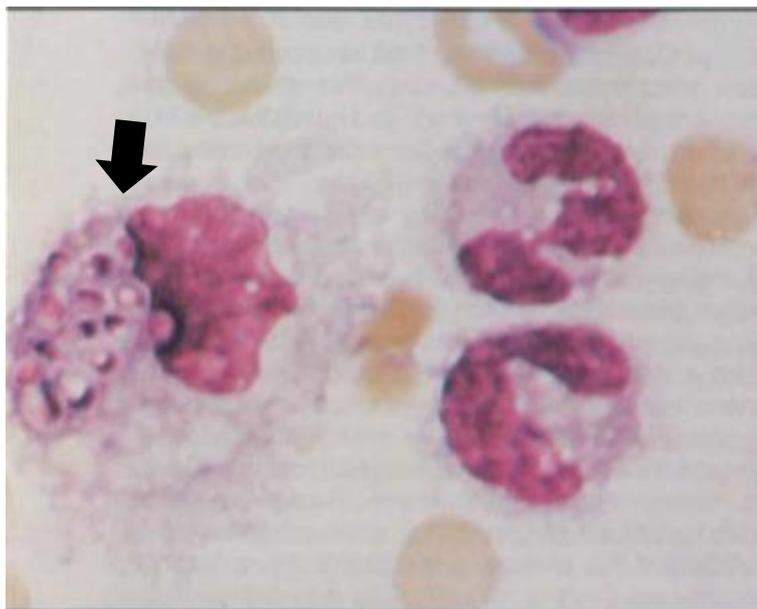


Figura 8. Macrófago grande (seta) contendo vários organismos de *Histoplasma capsulatum* corados pela wright's giemsa, 100x. Fonte: Meadows; MacWilliams; Dzata; Delauche (1992, p.124).

A transmissão do *H. capsulatum* se dá por meio da inalação de microconídios encontrados em fezes de algumas espécies de morcegos e aves (Hoff & Bigle, 1981). Devido ao tamanho reduzido desses microconídios a penetração deles nos alvéolos pulmonares é facilitada (Stark, 1982). Essa induz uma resposta inflamatória do hospedeiro, composta por células de defesa do corpo (macrófagos e células reticuloendoteliais do local), que irão fagocitar os conídios e leveduras, mas não possuem a capacidade de destruir o patógeno (Gildea et al., 2005). Essas leveduras quando entram no interior dos macrófagos se multiplicam, deslocando-se até os linfonodos pulmonares, chegando à circulação sanguínea e disseminando-se para vários órgãos como baço, fígado, medula óssea, entre outros (Conces, 1996).

A apresentação clínica causada pela histoplasmose varia de acordo com o estado imunitário do hospedeiro, do grau de infecção e da virulência dos microconídios (Guimarães et al., 2006). Em cães e gatos, a infecção por *H. capsulatum* pode apresentar amplos espectro de síndromes clínicas, sendo elas classificadas em três formas: assintomática, respiratória e sistêmica ou disseminada, sendo a assintomática ou subclínica a forma mais comum, a qual o animal não apresenta sintomatologia, porém, comumente reagem positivamente ao teste (Coelho et al., 2010). A forma respiratória geralmente é autolimitante, podendo apresentar perda de peso, inapetência, tosse, dispneia, taquipneia e efusão pleural (Bromel; Sykes, 2005). Na forma sistêmica ou disseminada, múltiplos órgãos são afetados, principalmente órgãos ricos em macrófagos, tais como fígado, baço, linfonodos, medula óssea e trato gastrointestinal (Clinkenbear et al., 1987).

A histoplasmose sistêmica ocorre especialmente em indivíduos imunocomprometidos, apresenta sinais bem inespecíficos tais como perda de peso, inapetência, febre e letargia, podendo ser observado também anemia (normocítica, normocrômica, não regenerativa), linfadenopatia, esplenomegalia, hepatomegalia que pode ser acompanhada por icterícia e ascite (Bromel; Sykes, 2005). Outra manifestação clínica que pode ocorrer em cães é a gastrointestinal, que cursa com diarreia com hematoquezia, muco e tenesmo, podendo evoluir para diarreia aquosa (Clinkbeard et al., 1987). Embora bem mais raro, pode ocorrer também manifestação neurológica, envolvimento ocular e ósseo (Lavelly et al., 2005; Tyre et al., 2007).

O tratamento de infecções por *H. capsulatum* depende do estado imunológico do paciente e do grau de infecção. O *H. Capsulatum* é vulnerável a diversos antifúngicos, como a anfotericina B, itraconazol e fluconazol. O itraconazol é muito utilizado na dose de 5 até 20 mg/kg/dia para cães e de 1,5 a 20mg/kg/dia em gatos, porém a anfotericina B é a mais eficaz no tratamento desta doença, principalmente em casos disseminados, sendo utilizado na dose 0,2 a 0,8mg/kg/dia em cães e 0,1 a 0,8mg/kg/dia em gatos. O fluconazol tem menos eficácia no tratamento em pacientes imunodeficientes e geralmente só é utilizado como terapia alternativa quando o paciente demonstra intolerância ao mesmo ou apresenta doença renal (Wheat, Joseph, 1995; Wheat; Jaham et al., 2000; Joseph et al., 2007).

2.4 *Sporothrix schenckii*

Sporothrix schenckii é um fungo saprófita, cosmopolita, dimórfico, presente no solo em associação com restos vegetais em regiões de clima temperado e tropical úmido. Existe no ambiente em temperaturas entre 25 a 30 °C em forma de bolor, e como levedura medindo 2 por 3 μ a 3 por 10 mm, “em charuto” ou “ovalóide”, em temperatura corpórea de 37°C (Bezerra et al., 2006).

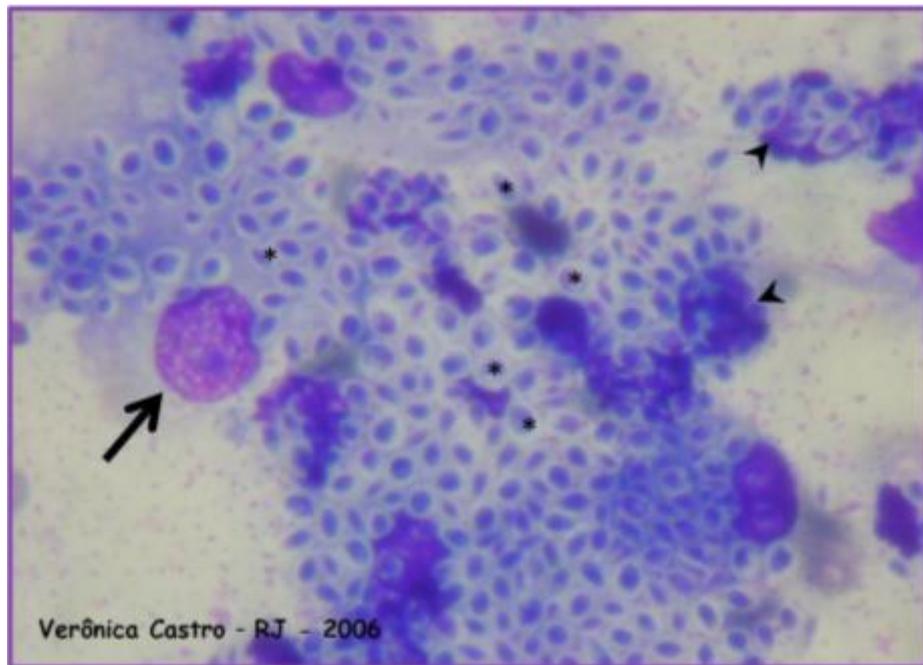


Figura 9. Processo inflamatório piogranulomatoso. Com presença de macrófagos (seta) e neutrófilos degenerados (cabeça de seta). Numerosas estruturas leveduriformes (asteriscos) de aspecto pleomórfico intra e extracelular sugestivo de infecção por *S. schenckii*. Lâmina confeccionada a partir de lesão exsudativa em um felino. (Panótico rápido, 100x). Fonte: Castro (2006, p.16)

A infecção ocorre através da inoculação transcutânea de propágulos do fungo por material contaminado, como solo, espinhos, lascas ou pela mordedura e arranhadura de animal infectado (Know-Chung & ennet, 1992). Eventualmente, a infecção pode ocorrer por vias alternativas, como as aéreas ou digestivas, levando posteriormente a uma doença sistêmica (Larsson, 2011).

Em cães, a esporotricose, é de incomum a rara, sendo mais prevalente em gatos (Paixão et al., 2001; Moriello, 2004). Manifesta-se na maioria das vezes como uma infecção que se limita a pele e ao tecido celular subcutâneo, e geralmente são observados nódulos firmes múltiplos, áreas alopecicas, lesões ulceradas não dolorosas nem pruriginosas, principalmente em tronco, cabeça e orelhas (Muller e Kirk, 1996; Nunes & Escosteguy, 2005; Whittemore & Webb, 2007). Existe também além da forma cutânea, a cutaneolinfática, que se apresenta com um nódulo na face distal de um membro, com infecção ascendente por via linfática, além da forma disseminada, que é extremamente rara (Muller e Kirk, 1996; Whittemore e Webb, 2007).

No tratamento da infecção por *Sporothrix schenckii*, o itraconazol é o mais utilizado, sendo recomendado na dose de 1,5-3mg/kg SID para gatos e 5-10mg/kg SID para cães (Nobre et al., 2002, Moriello, 2004). Podendo também ser utilizado iodetos ou cetoconazol, porém felinos apresentam maior sensibilidade aos seus efeitos tóxicos (Rosser & Dunstan, 1990; Nobre et al., 2001). No caso da esporotricose sistêmica a anfotericina B é a droga de escolha, devido sua potência e amplo espectro de ação (Khoo et al., 1994; Fillipin e Souza, 2006). Há

uma grande variação de doses de anfotericina B descrita na medicina veterinária, sendo recomendado uma dosagem de 0,5 mg/kg para os cães em dias alternados e 0,15 mg/kg para os gatos, os quais parecem ser mais sensíveis aos efeitos nefrotóxicos do fármaco (Heit & Riviere, 1995; Scott et al., 1996). Com a maior ocorrência da doença alguns protocolos alternativos têm sido testados com sucesso em animais experimentais com esporotricose cutânea, como a terbinafina e a associação do imunomodulador β glucana ao antifúngico itraconazol e a associação de itraconazol oral e anfotericina B intralesional (Lopes-Bezerra et al., 2006; Madrid, 2007, Gremião 2010).

2.5 *Cryptococcus neoformans*

Cryptococcus neoformans é uma levedura patogênica, encapsulada e cosmopolita, conhecida também como torulose, blastomice europeia ou Busse-Buschke (Queiroz, 2008). Podem ser classificadas como duas espécies, *C. neoformans* e a *C. gatti* (Kwon-chung et al., 2002). O *C. neoformans* possui duas variedades *C. neoformans* Var. *grubi* (sorotipos A e AD) e *C. neoformans* Var. *neoformans* (sorotipo D) e o agente patogênico primário *C. gatii* (sorotipos B e C) com base em análises dos padrões genéticos do DNA (Franzot; Salkin; Casadevall, 1999). São frequentemente isolados nas excretas dessecadas de aves, especialmente pombos urbanos (Farias & Xavier 2009). Tem como principal porta de entrada a via inalatória, causando primariamente infecção pulmonar, podendo ser assintomática ou sintomática (Queiroz, 2008).

O *C. neoformans* em tecido animal e em condições ideais de laboratório, se apresentam em forma leveduriforme com uma cápsula polissacarídica mucoide (Castellá et al. 2008). A infecção pode ocorrer através da inalação de propágulos de origem ambiental (Levitz, 1991), que são justamente essas leveduras desidratadas, com diâmetro menor que 2 μ m (Fillú et al, 2002). Facilmente encontradas em locais contendo excretas dessecadas de aves, ocos de árvores, em poeira e/ou alimentos contaminados com essas fezes, sendo eventualmente eliminadas no meio ambiente. (Casadevall e Perfect, 1998).

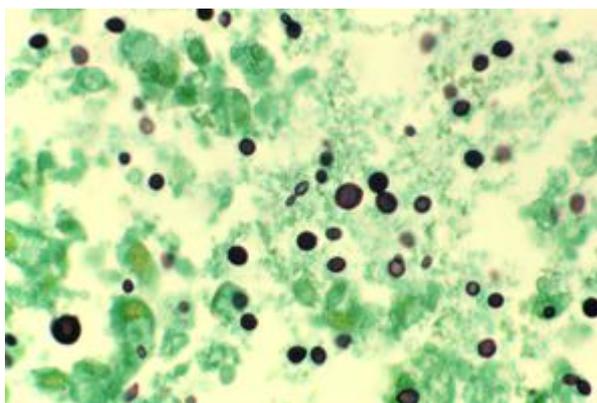


Figura 10. *Cryptococcus* sp em tecido pulmonar corado com Grocott (GMS). Fonte: CDC (2018)

Quando se apresenta na forma respiratória, as lesões se restringem a cavidade nasal e aos pulmões (Castellá et al. 2008), podendo apresentar também a forma disseminada, que ocorre através da disseminação do fungo por via hematogena ou linfática, para o encéfalo, olhos, pele e outros órgãos, principalmente sistema nervoso central (Rodrigues et al., 1999; Farias e Xavier 2009; Kumar et al., 2005 apud Bivanco et al., 2006. No tratamento de infecções causadas pelo *Cryptococcus neoformans* também é recomendado o uso de antifúngicos sistêmicos, como anfotericina B utilizado na dose 0,2 a 0,8mg/kg/dia em cães e 0,1 a 0,8mg/kg/dia em gatos, fluocitosina na dose de 125 a 250mg/kg/dia em cães e gatos, cetoconazol na dose 5 a 30 mg/kg/dia em cães e gatos, itraconazol na dose 5 a 20mg/kg/dia em cães e 1,5 a 20mg/kg/dia em gatos, fluconazol na dose 2,5 a 5,5 em cães e 2,5 a 5mg/kg/dia em gatos, isoladamente ou em associações (Sande & Mandell, 1987; Lacaz & Negro, 1991; Richardson & Warnock, 1993; Larsson et al., 2003). Sendo o itraconazol e o fluconazol os mais indicados nos casos de infecções que atinjam o sistema nervoso central, por apresentarem boa penetração no mesmo (Pereira & Coutinho, 2003).

2.6 Métodos diagnósticos

O diagnóstico de infecções micóticas muitas vezes é uma dificuldade na prática veterinária, por não apresentarem alterações clínicas e lesões macroscópicas características que permitam um diagnóstico presuntivo (Kaufman 1992, Jensen et al. 1996), afetando assim a rapidez do diagnóstico e, muitas vezes, fazendo com que o paciente progrida ao óbito.

O isolamento e a identificação do fungo é o padrão ouro para o diagnóstico de infecções fúngicas (Guimarães et al., 2006). O encontro do fungo em fluídos orgânicos (escarro, sangue, líquido) ou tecidos e a sorologia são métodos diagnósticos altamente sugestivos e confiáveis, no entanto, o diagnóstico definitivo é feito mediante cultura (Carneiro et al., 2005). Porém, a

identificação definitiva por cultura é cara e demorada, podendo levar algumas semanas (Sprouse, 1972). Sendo assim, técnicas imunológicas e bioquímicas podem fornecer um diagnóstico rápido e presuntivo de infecções agudas, na sua fase inicial ou crônica (Guimarães et al., 2006). Dentre elas destacam-se: imunodifusão dupla em gel, reação de fixação do complemento, *western blot*, ELISA, RIA e PCR (Pizzini et al., 1999, Gomez et al., 1997; 1999, Guimarães et al., 2006, Muraosa et al., 2016).

Exames citopatológico e histopatológico também são úteis no diagnóstico presuntivo dessas micoses, principalmente nos felinos, devido a quantidade de amostra coletada ser mais representativa (Dunstan et al., 1986). Realizados através de colorações como Giensa, Wright ou impregnação por prata. Exames citológicos são exames de simples execução, baixo custo, rapidez analítica e que podem ser usados rotineiramente em estabelecimentos veterinários no diagnóstico presuntivo dessas doenças (Cowell et al., 2008). As colorações do tipo Romanowsky, como o método panótico rápido, são rotineiramente utilizadas (Meinkoth et al., 2008). Os métodos de coloração mais utilizados são: HE, PAS e Grocott, sendo as duas últimas técnicas especiais apropriadas para a visibilização de fungos (Dunstan et al., 1986). O PAS é muito utilizado para visibilização de fungos, no entanto quando estão em pequena quantidade é preferível optar pelo método de Grocott, este método baseia-se na redução da prata pelos grupos aldeídos resultantes da oxidação pelo ácido crômico. No final os fungos são marcados de cor negra. É o método de eleição para detecção destes microrganismos principalmente quando o seu número é diminuto (Alves, 2002). A necropsia, por sua vez, também pode fornecer dados complementares no diagnóstico dessas infecções, podendo ser encontrado esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenopatia, mucosas ictéricas, pulmão com focos fibrosos, formações nodulares e etc. (Honscho et al., 2003).

O diagnóstico definitivo destas micoses é feito mediante cultura (Carneiro et al., 2005). A cultura micológica pode ser realizada através da utilização de amostras de punção de medula óssea, linfonodos, lavado bronco alveolar e biopsias ou *swabs* cutâneos. (GUIMARÃES et al., 2006). O cultivo deve ser em meios específicos e incubado a temperaturas em torno de 25°C, por um período mínimo de 6 semanas para obtenção da forma micelial e incubação a 37°C para confirmação do dimorfismo do agente (Jericó, 2015). Geralmente os meios de cultivo utilizados são ágar-Sabouraud dextrose, ágar-batata e Mycosel® (GUIMARÃES et al., 2006; UNIS et al., 2004). Para o diagnóstico definitivo de histoplasmose por exemplo, é necessário a caracterização do dimorfismo térmico através da conversão para fase leveduriforme, realizada em meio de cultivo ágar infusão de cérebro-coração (BHI) a 35-37 o C (UNIS et al., 2004).

Além destes exames, alguns outros exames complementares podem indicar a infecção fúngica, no exame radiográfico de tórax é possível visibilizar infiltrados intersticiais lineares

ou nodulares difusos, podendo coalescer tomando parte do parênquima pulmonar, também podendo ser encontrados nódulos lineares calcificados e evidenciando esplenomegalia e hepatomegalia. Na ultrassonografia pode ser encontrado ecogenicidade anormal no fígado (hiperecoico) e nodulações além de espessamento de parede intestinal. No hemograma é comum encontrar anemia arregenerativa normocítica normocrômica, contagem de leucócitos variável, observando-se leucocitose por neutrofilia, monocitose e eosinopenia ou até leucopenia. Geralmente o perfil bioquímico não evidencia alterações (Jericó, 2015).

3 RELATO DE CASO

No dia 19 de agosto de 2019, deu entrada no Hospital Veterinário Universitário (HVU) da UFRPE, um cão, de porte médio, macho, da raça Poodle, de mais ou menos seis anos de idade, não castrado, pesando seis quilos. Durante a anamnese obteve-se, junto aos tutores, a descrição de um animal apático, com um quadro de anorexia há dois dias, com tremores lombares, constipação de mais ou menos três dias, polidipsia, urina alaranjada, quadro de convulsão há 24 horas e com presença de pulicídeos e ixodes. Ainda de acordo com os tutores, o animal vivia em casa, com acesso ao quintal e coabitava com galinhas e só tinha acesso à rua guiado.

O exame clínico revelou um estado geral ruim, escore corporal 2 (2/5), diminuição do turgor cutâneo, desidratação de moderada a severa, mucosas hipocoradas, ictéricas e ressecadas, hipotermia (35,1 °C), linfadenomegalia generalizada e esplenomegalia. Além disso, ressalta-se que o animal se encontrava em estupor. Não foram observadas lesões cutâneas dignas de nota.

Exames laboratoriais complementares foram solicitados pelo médico veterinário que atendeu o caso: (a) teste sorológico anti-*Leishmania*, (b) hemograma, e (c) pesquisa de hemoparasitos. Para tanto, após procedimentos de assepsia e antisepsia, foi coletado sangue, por meio de punção da veia cefálica com agulha hipodérmica cinza 22G em seringa de 3 mL e depositado em tubo contendo EDTA de 0,5 mL. A amostra biológica (sangue) foi encaminhada para o laboratório de patologia clínica do HVU da UAG/UFRPE, local em que o ESO foi realizado. Após coleta do material biológico o animal foi encaminhado para fluidoterapia em que foi administrado 3 mL de Decamin B, por via subcutânea, enquanto aguardava os resultados dos exames solicitados.

Após recebimento do material, o sangue foi submetido às diferentes técnicas para cada exame complementar solicitado. Para a detecção de anticorpos anti-*Leishmania*, como método de triagem, foi utilizado o teste rápido imunocromatográfico DPP LVC Bio-manguinhos® contendo proteínas recombinantes K28 de *Leishmania chagasi*. O teste de DPP foi realizado de acordo com o protocolo do fabricante. O teste DPP LVC Bio-manguinhos® foi não reagente.

Na análise hematológica, em microscopia óptica de esfregaço sanguíneo em lâmina e corado pela coloração tipo Romanowsky (Panótico rápido-Laborclin®) objetivando a visualização de estruturas celulares, evidenciaram-se: anemia normocítica, normocrômica, com discreta anisocitose por micrócitos e policromatófilos. Em relação ao leucograma, evidenciou-se moderada leucopenia por neutropenia, com desvio à esquerda acentuado degenerativo, além de acentuada toxicidade neutrofílica e reatividade de linfócitos. Verificou-se ainda

trombocitopenia e plasma icterico. Os dados referentes aos achados hematológicos estão reunidos nas tabelas 7, 8 e 9.

Tabela 7. Resultados obtidos da série eritrocitária do hemograma de um cão poodle, de 6 anos de idade.

Eritrograma		
	Valores	Valores de referência (1-8 anos)
Hemácias	3.150.000	5,5 – 8,5 x 10 ⁶ / µl
Hemoglobina	6.9	12 – 18g/dL
Hematócrito	20	37 – 55 %
VCM	63.5	60 – 77/fL
CHCM	34.5	32 – 36g/dL

Observações da série eritrocitária: Anisocitose (++-); micrócitos (++-). Policromatófilos (++-)

Fonte: Valores de referência - WEISS et al. (2010)

Tabela 8. Resultados obtidos da série leucocitária do hemograma de um cão poodle, de 6 anos de idade.

Leucograma				
Leucócitos Totais		Valores de referência (1-8 anos)		
	Relativo	Absoluto	Relativo	Absoluto
Mielócitos	01	33	00	00
Metamielócitos	01	33	00	00
N. Bastonetes	10	330	00 – 03%	00 – 300/ µl
N. Segmentados	76	2.508	60 – 77%	3.000 – 11.500/ µl
Eosinófilos	04	132	02 – 10%	100 – 1.250/ µl
Basófilos	00	00	Raros	Raros
Linfócitos	07	231	12 – 30%	1.000 – 4.800/ µl
Monócitos	01	33	03 – 10%	150 – 1.350/ µl
Outros	00	00	00	00
Total	100	3.300		

Observações da série leucocitária: Neutrófilos tóxicos 100% (perda de contornos nucleares, vacuolização citoplasmática, neutrófilos gigantes). Linfócitos reativos 100%.

Fonte: Valores de referência - WEISS et al. (2010).

Tabela 9. Resultados da série plaquetária do hemograma de um cão poodle, de 6 anos de idade.

Plaquetograma		
	Valores	Valores de referência (1 – 8 anos)
Plaquetas	20.000	200.000 – 500.000/ µl

Observações da série plaquetária: Plaquetas morfologicamente normais.

Fonte: Valores de referência - WEISS et al. (2010).

Ademais, em parte do material biológico (sangue), para pesquisa de hemoparasitos, também foram confeccionadas lâminas através da técnica de esfregaço sanguíneo e coradas pela coloração tipo Romanowsky (Panótico rápido-Laborclin[®]). Pela avaliação das lâminas, foi possível visualizar pequenas estruturas arredondadas a ovaladas, com ausência de cinetócoro e núcleo excêntrico, compatíveis com microrganismos leveduriformes (figura 11), dispostas ao fundo de lâmina e no citoplasma de neutrófilos e monócitos, sendo sugerido diagnóstico diferencial para *Sporothrix* spp. e *Histoplasma* spp. O animal evoluiu ao óbito em 2 horas após dar entrada no Hospital Veterinário Universitário. Mesmos assim, diante das suspeitas iniciais desta primeira bateria de análise das lâminas e na ausência de colorações especiais no Laboratório de Patologia clínica do HVU, outros esfregaços foram realizados e as lâminas acondicionadas em tubos especiais contendo álcool 70% e submetidas ao laboratório veterinário Pathovet, na cidade de Fortaleza, para estudo citoquímico com as colorações PAS e Gomori-Grocott, visando a confirmação se as estruturas observadas ratavam-se realmente de fungos pela identificação morfológica mais acurada pretendendo pesquisa de *Sporothrix* spp, *Histoplasma* spp e/ou *Cryptococcus* spp. Os achados obtidos nestas avaliações encontram-se descritos nas figuras 12 e 13. De maneira geral, estruturas microscópicas de leveduras e fungos foram confirmadas de suas presenças. Não foi realizado cultivo micológico.

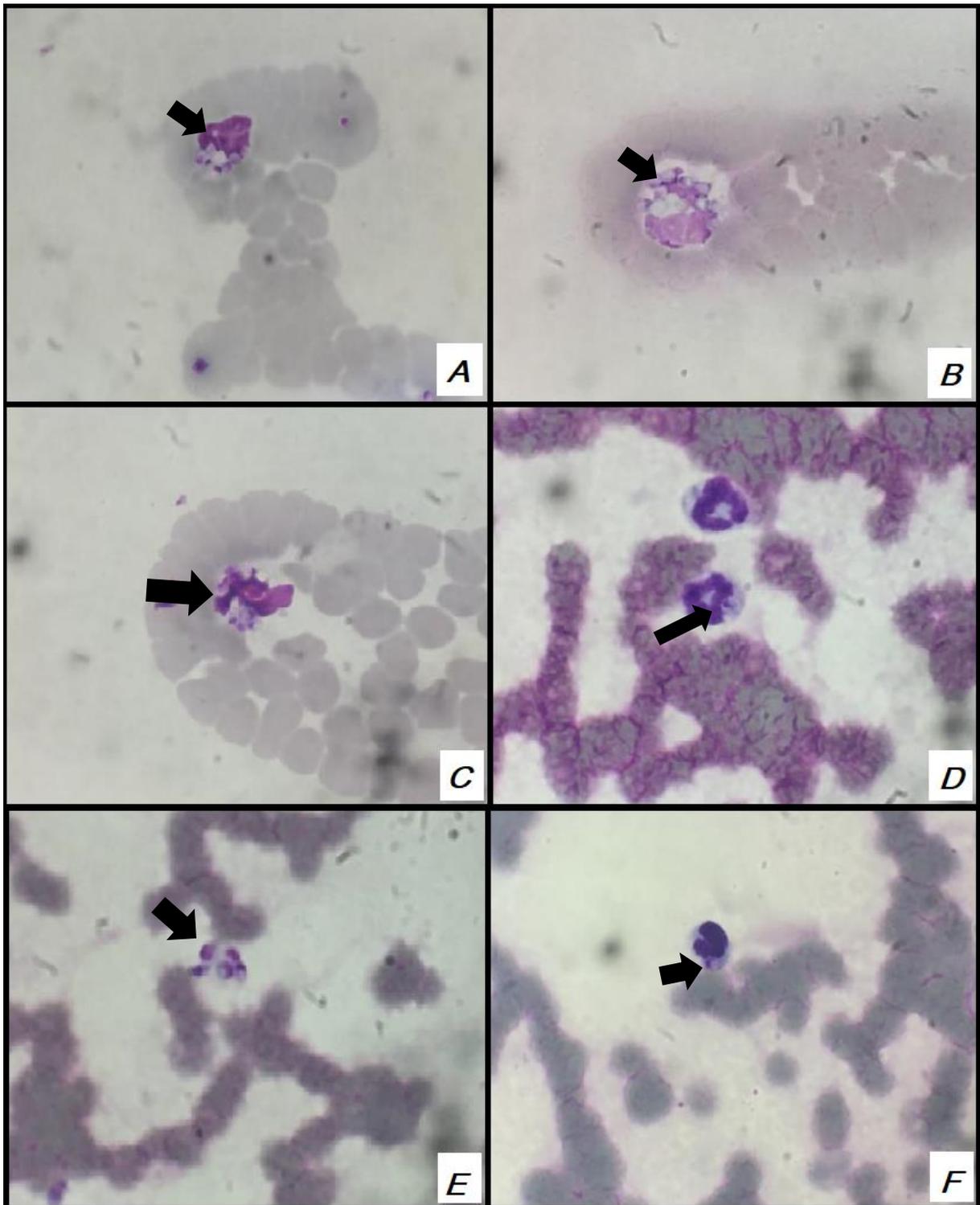


Figura 11. Esfregaço sanguíneo corado com a técnica do panótico rápido. A- As setas mostram fagócitos contendo várias estruturas leveduriformes de arredondadas a levemente ovaladas intracelular, objetiva de imersão de 100x. B- Maior ampliação, onde é possível observar estruturas arredondadas com ausência de cinetócoro e núcleo excêntrico, compatíveis com microrganismos leveduriformes, objetiva de imersão de 100x. C- Presença de estruturas arredondadas com ausência de cinetócoro e núcleo excêntrico intracelular, compatíveis com microrganismos leveduriformes D- Presença de pequena estrutura leveduriforme dentro de fagócito. E- É possível observar essas mesmas estruturas descritas anteriormente em fundo de lâmina. F- Presença de pequena estrutura leveduriforme dentro de monócito. Fonte: Arquivo (2019).

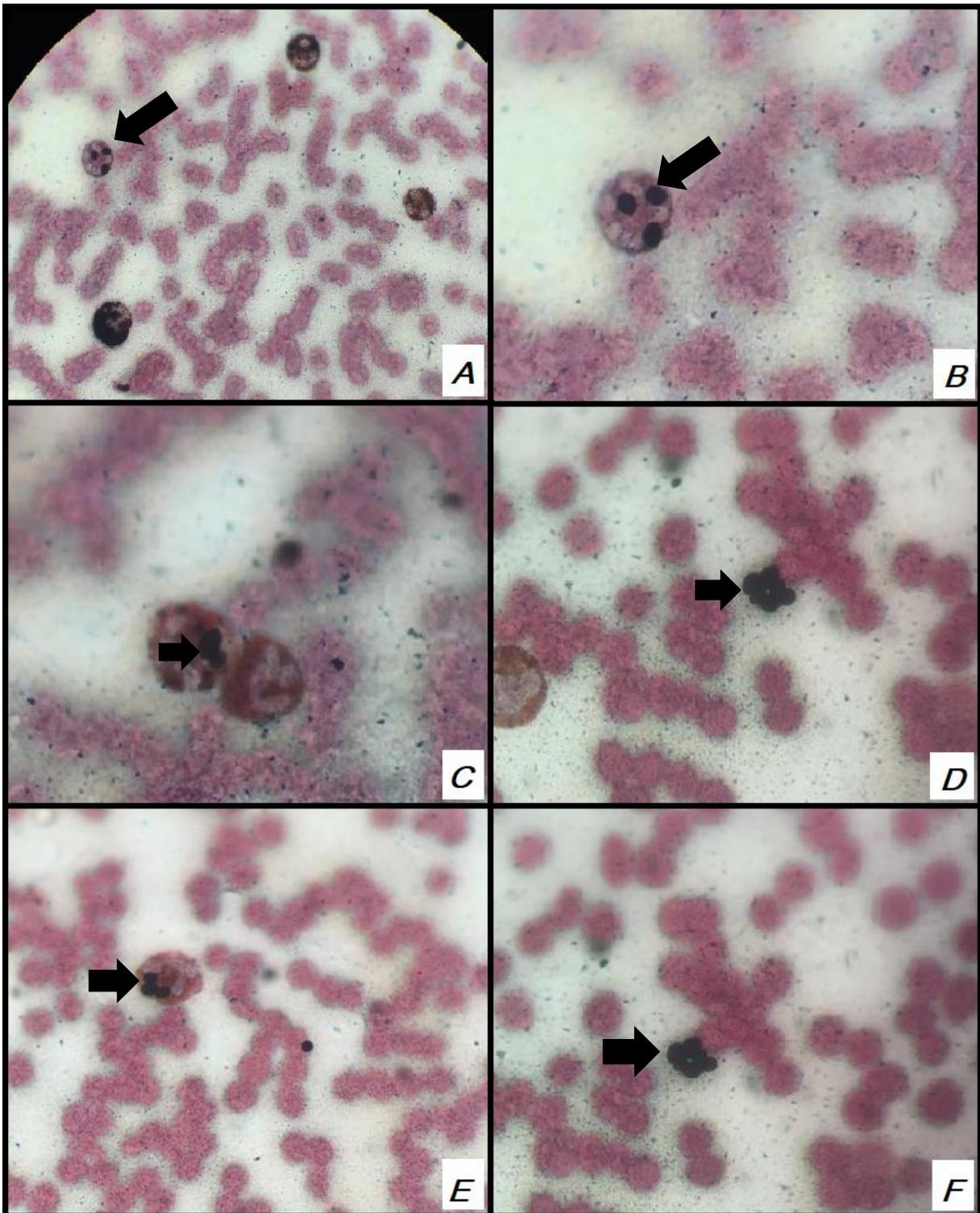


Figura 12. Esfregaço sanguíneo corado com a técnica Gomori-Grocott, a técnica impregna pela prata a parede celular do fungo, constituída por carboidratos complexos tornando-a enegrecida. A e B- presença de estruturas arredondadas a levemente ovaladas, enegrecidas dentro de células sugestivamente neutrófilos, C- Presença de uma única estrutura leveduriforme dentro de um fagócito. D- Fungos mostram notável regularidade, aparecem como leveduras pequenas, redondas ou levemente ovaladas, formando cachos ao fundo de lâmina, objetiva de 100x. E e F- Mostram estruturas leveduriformes em cachos intracelular e extracelular, objetiva de imersão de 100x. Fonte: Arquivo pessoal (2019).

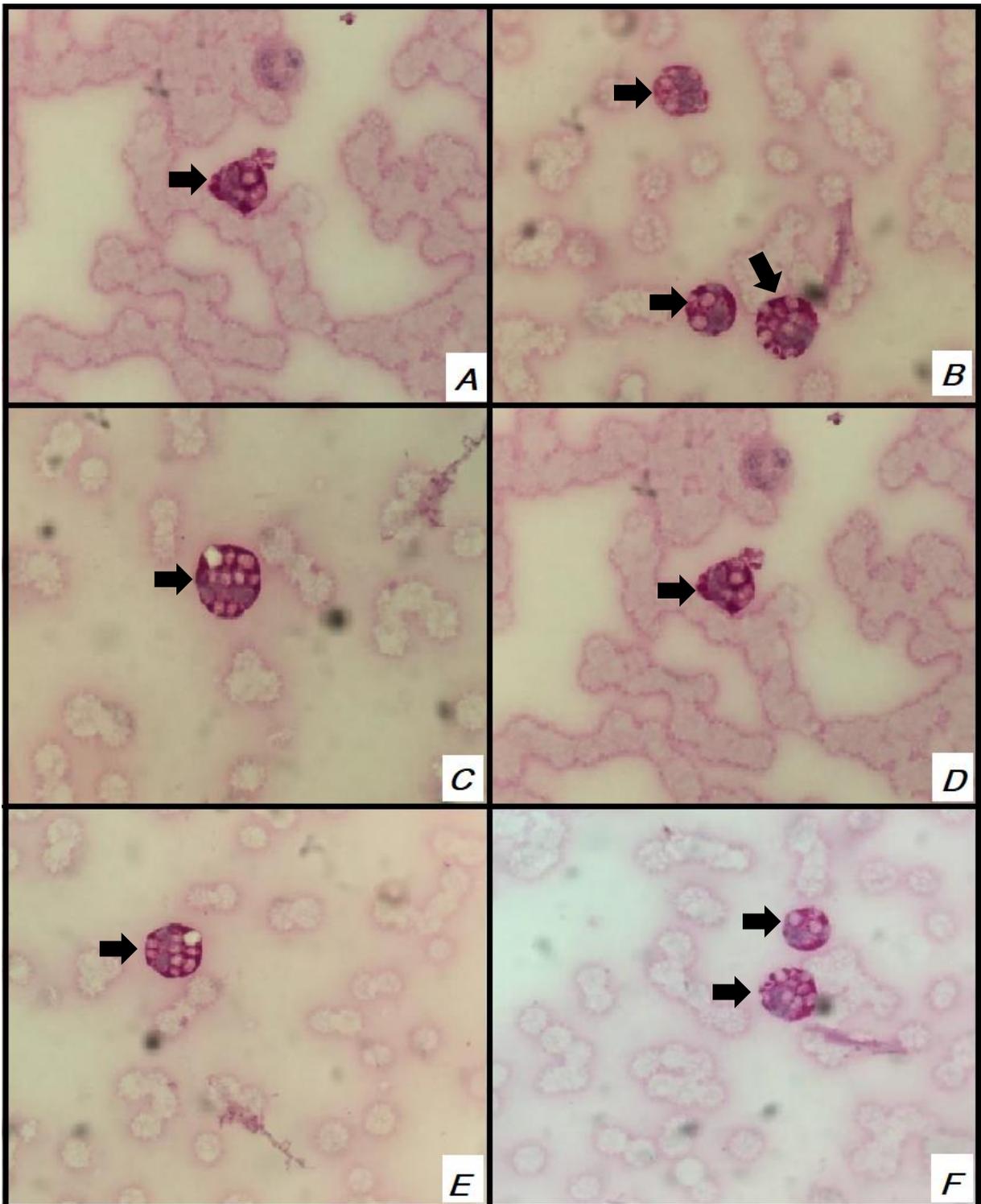


Figura 13. Esfregaço sanguíneo corado com a técnica de PAS demonstra o corpo celular do fungo em cor magenta forte e a cápsula polissacarídica em róseo. Fonte: Arquivo pessoal (2019).

4 DISCUSSÃO

Microrganismos presentes no sangue de hospedeiros, a depender de sua patogenicidade e virulência bem como do *status* imune do hospedeiro podem desencadear diferentes manifestações clínicas, evoluir para auto cura ou doença e morte. Parasitos de sangue, genericamente denominados de hemoparasitos, desencadeiam, em maior ou menor extensão, doenças conhecidas como hemoparasitoses. Segundo Labarthe et al., (2003), em cães, as hemoparasitoses são doenças causadas por patógenos, bactérias e/ou protozoários, que obrigatoriamente vivem no interior das células sanguíneas, e são transmitidos por vetores hematófagos. As suspeitas clínicas no atendimento do animal do caso reportado, provavelmente, foram de hemoparasitoses, em especial babesiose, erliquiose e/ou leishmaniose visceral canina (LVC). O estado clínico geral do animal bem como de alguns sinais mais evidentes tais como a linfadenomegalia generalizada e a esplenomegalia, associados a outros sintomas e ao encontro de ixodes (carrapatos) remetiam às suspeitas citadas. Ademais, algumas das alterações hematológicas, corroboraram com a probabilidade de infecção simples ou mista por *Babesia* sp, *Ehrlichia* sp ou *Leishmania* sp tais como anemia e trombocitopenia. É sabido que a infecção por qualquer um destes agentes citados, alterações como a anemia e a trombocitopenia se fazem presentes em hospedeiros doentes (Valente, 2014). Porém, nos esfregaços sanguíneos, não foram encontradas estruturas compatíveis com os hemoparasitos citados. Torna-se importante salientar que, a sensibilidade do teste direto por esfregaço sanguíneo é relativamente baixa para os três microrganismos (Valente, 2014), não devendo ser excluída a possibilidade de acometimento por algum(ns) dele(s). Por outro lado, o resultado negativo para o teste de triagem sorológico anti-*Leishmania* com o teste rápido DPP LVC Biomanguinhos[®] cuja sensibilidade em animais sintomáticos é por volta de 98% (Grimaldi et al., 2012) pode-se considerar, então, a menor probabilidade de se tratar LVC.

Por outro lado, através da primeira citoquímica, pequenas estruturas arredondadas a ovaladas, com ausência de cinetócoro e núcleo excêntrico, compatíveis com microrganismos leveduriformes foram visibilizadas. De forma interessante, a citoquímica trata-se de uma área da biologia celular e estrutural dedicada ao estudo do material por meio da coloração dos tecidos e dos constituintes celulares ou subcelulares (Oliveira, 2015). No caso relatado foram utilizadas três técnicas de colorações, uma de uso rotineiro (Panótico rápido-Laborclin[®]) e duas colorações especiais (PAS e Gomori-Grocott) que visam identificar fungos nos materiais estudados. A primeira coloração utilizada foi o panótico-rápido tipo Romanowsky, que visa por meio desta coloração identificar as células e suas estruturas celulares. As colorações hematológicas usuais em laboratórios são ditas “panóticas”, pois o material depois de corado

permite a visualização de todos os elementos do sangue, sem que haja degeneração de células. Os corantes hematológicos são misturas de sais ácidos e básicos que permitem a coloração de estruturas citoplasmáticas e nucleares das células (Larboclin, 2018). O Panótico estabelece não só um diagnóstico de urgência, mas também avalia a celularidade do material. A segunda coloração utilizada foi a especial tipo Gomori-Grocott que se baseia na redução da prata pelos grupos aldeídos resultantes da oxidação pelo ácido crômico. No final, os fungos são marcados de cor negra. É o método de eleição para detecção destes microrganismos principalmente quando o seu número é pequeno (Alves, 2002). Segundo Uejo (2012) a técnica impregna pela prata a parede celular do fungo, constituída por carboidratos complexos tornando-a enegrecida, demonstrando ao microscópio estruturas arredondadas a levemente ovaladas e enegrecidas. Ainda, segundo Uejo (2012), para bons resultados no exame, o Grocott deve ser "suave" para permitir a visualização dos detalhes das paredes celulares, se o limite de 15 minutos for ultrapassado, os fungos ficam em negro carregado, perdendo a transparência e impossibilitando a visualização dos detalhes das paredes celulares. A terceira e última coloração utilizada no estudo citoquímico do material, foi por ácido periódico de Schiff (PAS), utilizado para visualização de fungos, no entanto quando estão em pequena quantidade é preferível utilizar o Grocott (Alves, 2002). É um método muito proveitoso na identificação de hidratos de carbono, particularmente glicogênio. O glicogênio e as mucinas são os dois maiores componentes dos hidratos de carbono. Algumas mucinas (apeladas de mucopolissacarídeo) que contêm mucinas neutras na sua composição são potencialmente positivas ao PAS. As substâncias PAS-positivas coram de cor magenta (Rodrigues, 2014).

Diante a ausência de diagnóstico definitivo por meio de cultura fúngica e/ou PCR, não se descarta a possibilidade de uma infecção por *Sporothrix schenckii*, pois, comumente/classicamente assume formas arredondadas ou em charuto. Porém possuem algumas variedades que podem assumir apenas formas arredondadas, assumindo também forte coloração (Bezerra et al., 2006). Também não se descarta a infecção por *Cryptococcus neoformans*, pois apesar de serem comumente bem maiores (13 - 30 micrômetros no cão), existem algumas variedades que também podem assumir formas pequenas (Fillú et al, 2002).

De maneira geral, as colorações especiais PAS e Gomori-Grocott realizadas pelo laboratório veterinário Pathovet de Fortaleza serviram para reforçar o diagnóstico prévio de presença de leveduras através da coloração por Panótico realizado pelo laboratório de Patologia clínica do HVU da UAG/UFRPE. Porém, foi possível observar a presença das pequenas estruturas leveduriformes nas três colorações, sendo estas evidenciadas nas duas colorações especiais (Grocott e PAS) e confirmado por meio destas, a presença de fungos no material biológico coletado. Ao observar a citomorfologia, com suas características, morfotintoriais e

comparar com estruturas encontradas na literatura científica é possível sugerir que estas estruturas se tratam de *Histoplasma capsulatum*, devido ao tamanho reduzido, aproximadamente 1-4 micrômetros, a morfologia arredondada a ovaladas, a inexistência de formas de “charuto” e a forte coloração. O que corrobora com Ferreira & Borges (2009) que afirma que: *H. capsulatum* adquire forma de pequenas células leveduriformes, com cerca de 1 a 5 µm de diâmetro, de arredondadas a ovaladas.

O quadro clínico descrito também pode ser sugestivo com o relatado para histoplasmose canina. Segundo Bromel & Sykes (2005), a histoplasmose canina cursa frequentemente com manifestações inespecíficas, podendo causar anorexia, sinais respiratórios, gastrintestinais, cursando com perda de peso, inapetência, letargia e icterícia. No caso relatado o animal apresentou anorexia, sinais gastrintestinais, perda de peso, letargia, inapetência e icterícia corroborando com a literatura e, segundo Taboada (2014) os sinais respiratórios são mais evidentes em gatos. Os demais sinais clínicos apresentados confirmam informações citadas por Taboada (2014), em que se observam na clínica de histoplasmose anemia normocítica normocrômica, linfadenopatia e esplenomegalia. Importante salientar que a trombocitopenia também esteve presente no relato de caso e é verificada em casos de histoplasmose em cães relatados na literatura (Brites, 2007). Além disso os tremores lombares e a convulsão podem estar relacionados a apresentação neurológica desta infecção (Lavelly et al., 2005).

O estudo citoquímico neste caso foi realizado devido a disponibilidade do exame, simples execução, baixo custo e rapidez analítica (Cowell et al., 2008). Além destas características, o animal veio a óbito de forma súbita e diante da negativa da tutora em fornecer material biológico, não foi possível chegar a um diagnóstico definitivo.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que o estudo citoquímico na identificação de estruturas leviduriformes em sangue de animais é uma técnica rápida, eficaz e de baixo custo quando disponível em laboratórios. A associação da citoquímica aos achados clínicos-hematológicos permitem afirmar que o animal apresentou uma micose sistêmica, sugerindo ser pelo agente *Histoplasma capsulatum*. Porém, o diagnóstico definitivo só poderia ser conclusivo através da cultura fúngica ou PCR. A evolução desfavorável do caso apresentado, evidencia a importância dos exames laboratoriais para um diagnóstico rápido que auxilie o médico veterinário a estabelecer o um pronto protocolo terapêutico direcionado ao agente causador da doença.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. R., Apostila de micologia clínica. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, disponível em:<http://www.portalbrasil.net/downloads/micoses.pdf>, acesso em 11/04/2008.
- ALVES, A. Histopathological analysis: reasons for delayed results. Congresso de Ciências Veterinárias [Proceedings of the Veterinary Sciences Congress, 2002], SPCV.
- ALVES, A., 2002. Análises histopatológicas: porque demoram os resultados. Disponível em: <http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/edicao/congresso/33.pdf>. Acesso em: 20 de novembro de 2019.
- BEZERRA, L.M.L.; SCHUBABCH, A.; COSTA, R.O. Sporothrix schenckii and Sporotrichosis. An. Acad. Bras. Cienc., v.78, p.293-308, 2006.
- BIVANCO, F. C., et al. Criptococose cutânea. Serviço de Dermatologia (Instituto da Pele) da Faculdade de Medicina do ABC. Arq Med ABC. 2006; 31(2):102-9.
- BROMEL, C. & SYKES, J.E. Histoplasmosis in Dogs and Cats. Histoplasmosis in dogs and cats. Clinical Techniques in Small Animal Practice, 20:227-232, 2005.
- CADADEVALL, A, Perfect JR. Cryptococcus neoformans. Washington: ASM Press; 1998.
- CARNEIRO, R. A.; LAVALLE, G. E.; ARAÚJO, R. B. Histoplasmosse cutânea em gato: relato de caso. Arquivo brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 57, p. 158-161, 2005.
- CASTELLÁ, G., Abarca M.L & Cabañes F.J. 2008. Criptococosis y animales de companhia. Revta Iberoam. Micol.225:S24.
- COELHO, C. G. V., BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; et al. Histoplasmosse em Medicina Veterinária: enfoque para cães e gatos. Clínica Veterinária, v. XV, p. 44-50, 2010.
- CONCES, DJ. Jr. 1996. Histoplasmosis. Semin Roentgenol, 31 (1), 14-27
- CLINKENBEARD, K.D.; COWELL, R.L.; TYLER, R.D. Disseminated histoplasmosis in cats: 12 cases (1981-1986). J. Am. Vet. Med. Assoc., v.190, p.1445-1448, 1987.
- DUNSTA, RW., LANGHAM, RF., REIMANN, KA., WAKENELL, PS. Feline sporotrichosis: a report of five cases with transmission to humans. J Am Acad Dermatol 1986;15(1):37-45.
- FARIAS, R.O. & Xavier M.O. 2009. Criptococose, p.191-203. In: Meireles M.C.A. & Nascente P.S (Eds), Micologia Veterinária. Ed. Universitária UFPel, Pelotas, Rs.
- FERREIRA, M. S.; BORGES A. S. Histoplasmosse. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 42, n. 2, p. 192-198, mar-abr 2009.
- FILLIPIN, FB, Souza LC. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. Rev Bras de Cienc Farmac 2006;42(2):167-194.
- FILIU, W.F.O.F.; WANKE, B.; AGUENA, S.M.; VILELA, V.O.; MACEDO, R.C.L.

LAZERA, M. 2002. Cativoiro de aves como fonte de *Cryptococcus neoformans* na cidade de Campo Grande, Mato Grosso de Sul, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 35(6): 591-95.

FRANZOT SP; SALKIN IF; CASADEVALL A. 1999. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*: separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype A isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 37:838-840.

GILDEA, L. A. et al. Human Dendritic Cell Activity against *Histoplasma capsulatum* Is Mediated via Phagolysosomal Fusion Human Dendritic Cell Activity against *Histoplasma capsulatum* Is Mediated via Phagolysosomal Fusion. v. 73, n. 10, p. 6803– 6811, 2005.

GOMEZ, BL, Figueroa JI, Hamilton AJ, Ortiz BL, Robledo MA, Restrepo A, Hay RJ. Development of novel antigen detection test for histoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35:2618-2622.

GOMEZ, BL, Figueroa JI, Hamilton AJ, Diez S, Rojas M, Tobon A, et al. Detection of the 70-kilodalton *Histoplasma capsulatum* antigen in serum of histoplasmosis patients: correlation between antigenemia and therapy during follow-up. *J Clin Microbiol.* 1999; 37:675-680.

GUILLOT, J. & Bond R. 1999. *Malassezia pachydermatis*: a review. *Med Mycol.* 37(5): 295–306.

GUIMARÃES, A. J.; NOSANCHUK, J. D.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M. Diagnosis of histoplasmosis. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, n. 1, p. 1–13, 2006.

GREMIÃO, Isabella Dib Ferreira. Tratamento da esporotricose felina com a associação de anfotericina B intralesional e itraconazol oral. 2010. 65 f. Tese (Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) - Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, 2010.

GRIMALDI, G. JR.; TEVA, A.; FERREIRA, A. L.; DOS SANTOS, C. B.; PINTO, I. D.; DE-AZEVEDO, C.T.; FALQUETO, A. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 106, n. 1, p. 54-59, 2012.

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

HOFF, G.L. & IGLER, W.J. The role of bats in the propagation and spread of histoplasmosis: a review. *J. Wildl. Dis.*, 17:191-6, 1981.

HONSHO, C. S.; MINE, S. Y.; ORIÁ, A. P.; BENATO, N.; CAMACHO, A. A.; ALESSI, A. C.; LAUS, J. L. Generalized systemic cryptococcosis in a dog after immunosuppressive corticotherapy. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. Belo Horizonte, v. 55, n. 2, p. 155-159, 2003

JAHAM, C.; PARADIS, M.; PAPICH, M.G. Antifungal dermatologic agents: azoles and allylamines. *Small Anim/Exotics*, v.22, n.6, p.548-558, 2000.

JENSEN, H.E., Schönheyder H.C., Hotchi M. & Kaufman L. 1996. Diagnosis of systemic mycoses by specific immunohistochemical tests. *Acta pathol., Microbiol. Immunol. Scand.* 104(4):241-258.

JERICÒ, M.M; KOGIKA, M. M; NETO, A. JP, Tratado de medicina interna de cães e gatos: 1. Ed. Rio de Janeiro: Editora ROCA, 2015. p 1384.

KAUFMA, L. 1992. Immunohistologic diagnosis of systemic mycoses: na update. *Eur. J. Epidemiol.* 8(3):377-382

KAUFFMAN, C. A. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. *Clinical microbiology reviews*, v. 20, n. 1, p. 115–32, jan. 2007.

KUMAR, P, Saran RK, Gondal R, Malhotra V. Smear morphology of cryptococcosis presenting as a subcutaneous swelling in healthy adults: a report of three cases. *Cytopathology* 2005;16:143-6.

KLEIN, B.S. TEBBETS, B. Dimorphism and virulence in fungi. *Current Opinion in Microbiology*, v. 10, n. 4, p. 314-319, 2007.

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

KWON-CHUNG, K. J.; BOEKHOUT, T.; FELL, J. W.; DIAZ, M. Proposal to conserve the name *Cryptococcus gattii* against *C. hondurianus* and *C. bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenomycetes, Tremellomycetidae). *Táxon*, v. 51, n. 9, p. 804-806, 2002.

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

KWON-CHUNG, K.J.; BENNETT, J.E. Sporotrichosis. In: JOHN WILLARD RIPPON, *Medical mycology*. Philadelphia : Lea & Fibeger, 1992. p.707-729.

LABORCLIN, 2018. Kit utilizado para realização de coloração rápida principalmente em hematologia e também em outros materiais biológicos. Disponível em: <https://www.laborclin.com.br/wpcontent/uploads/2019/05/COLARACAO_PANOTICO_RAPIDO_19122018.pdf>. Acesso em: 27 de novembro de 2019.

LACAZ, C. S.; NEGRO, G. Drogas antifúngicas. Terapêutica das micoses. In: LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C. *Micologia médica fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. São Paulo : Savier, 1991. Cap.38. p.616-651.

LARSSON, C.E., Otsuka M., Michalany N.S., Barroa P.S.M., Gambale W. & Safatle A.M.V. 2003. Canine ocular cryptococcosis: a case report. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 55(5):533-538.

LARSSON, C.E. 2011. Esporotricose. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 48(3):250-259. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.11606/S1413-95962011000300010>>. Acesso em: 25 de outubro de 2019.

LAVELY, J.; LIPSITZ, D. Fungal Infections of the central nervous system in the dog and cat. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, v. 20, p. 212-219, 2005.

LEVITZ, S.M. The ecology of *Cryptococcus neoformans* and the epidemiology of cryptococcosis. *Reviews of Infectious Diseases*, v.13, n.6, p.1163-1169, 1991.

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

MAIA, C. Campino L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Vet Parasitol.* 2008 Dec;158(4):274-87. DOI:10.1016/j.vetpar.2008.07.028.

MADRID, I.M., SANTOS JÚNIOR R., SAMPAIO JÚNIOR D.P., MUELLER E.N., DUTRA D., NOBRE M.O. & MEIRELES M.C.A.; Esporotricose canina: relato de três casos; *Acta Scientiae Veterinariae*. 35: 105-108; 2007.

MEINKOTH, J.H., Cowell R.L., Tyler R.D. & Morton R.J. 2008. Sample collection and preparation, p.1-19. In: Cowel R.L., Tyler R.D., Meinkoth J.H. & DeNicola D.B. (Eds), *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. 3rd ed. Mosby Elsevier, Canada. 475p.

MORIELO, K.A. Treatment of dermatophytosis in dogs and cats: review of publish studies. *Vet. Dermatol.*, v.15, p.99-107, 2004

MURAOSA, Y. et al. Detection of *Histoplasma capsulatum* from clinical specimens by cycling probe-based real-time PCR and nested real-time PCR. *Medical Mycology*, v. 54, n. 4, p. 433–8, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26705837>>. Acesso em: 10 de novembro de 2019.

MULLER, G.H.; KIRK, R.W. (Eds). *Dermatologia de pequenos animais*. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996. p.88-103.

NITZKE, J. A., BIEDRZYCKI, A. Leveduras. 2017. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/alimentus1/pao/fermentacao/levedura.htm>>. Acesso em: 12 de outubro de 2019.

NOBRE, M.O. et al. Recurrence of sporotrichosis in cats with zoonotic involvement. *Revista Iberoamericana de Micologia*, v.18, n.3, p.137-140, 2001.

NOBRE, M.O. et al. Esporotricose zoonótica na região Sul do Rio Grande do Sul (Brasil) e revisão da literatura brasileira. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v.9, n.1, p.36-41, 2002.

NUNES, F.C.; ESCOSTEGUY, C.C. Esporotricose humana associada à transmissão por gato doméstico: relato de caso e revisão de literatura. *Rev. Clin. Vet.*, v.54, p.66-68, 2005.

OLIVEIRA, A. V. S. Trabalho de pesquisa: Técnicas citoquímicas e imunocitoquímicas, 2015. Disponível em: <<https://www.passeidireto.com/arquivo/18484611/trabalho-tecnicas-citoquimicas-e-imunocitoquimicas>>. Acesso em: 27 de novembro de 2019.

PAIXÃO, G.C.; SIDRIM, J.J.C.; CAMPOS, G.M.M. et al. Dermatophytes and saprobe fungi isolated from dogs and cats in the city of Fortaleza, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.53, p.568-573, 2001

PERDONCINI, G. M., Morfologia dos fungos, 2013. Disponível em: <<http://paginapessoal.utfpr.edu.br/geraldomicrobiologia/Morfologiadofungos.pdf>>. Acesso em: 12 de outubro de 2019.

PEREIRA, A.P.C.; COUTINHO, S.D.A. Criptococose em cães e gatos – revisão. Ver. Clin. Vet., v.8, p.24-32, 2003.

PIZZINI, CV, Zancope-Oliveira R M., Reiss E, Hajjeh R, Kaufman L, Peralta J M. Evaluation of a western blot test in an outbreak of acute pulmonary histoplasmosis. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 1999. 6 (1) 20-23.

PINTO, G. R. F., Katz, C. M. L., 2012. Caderno de referência 2: citopatologia não ginecológica. Disponível em: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:6VndRWe6LVwJ:bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/tecnico_citopatologia_caderno_referencia_2.pdf+&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>. Acesso em: 21 de novembro de 2019.

QUEIROZ, J. P. A. F., et al. Criptococose - uma revisão bibliográfica. Acta Veterinaria Brasilica, v.2, n.2, p.32-38, 2008.

RICHARDSON, M. D.; WARNOCK, D. W. Fungal infection – Diagnosis and management. London : Blackwell, 1993. Cap.3: Antifungal drugs: 17-43

ROONEY, P. J.; KLEIN, B. S. Linking fungal morphogenesis with virulence. Cellular Microbiology, v. 4, n. 3, p. 127-137, 2002.

RODRIGUES, M.L., Alviano C. & Travassos L.R. 1999. Pathogenicity of Cryptococcus neoformans: virulence factors and immunological mechanisms Microbes Infect.1(4):293-301.

ROMANI, L. Immunity to fungal infections. Nature reviews: Immunology, London, v. 4, n. 1, p. 1-13, 2004.

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

SANDE, M. A.; MANDELL, G. L. Drogas antimicrobianas – Drogas antimicóticas e antivirais. In: GOODMAN, L.; GILMAN, A.G. As bases farmacológicas da terapêutica. Rio de Janeiro : Guanabara, 1987. Cap.54. p.799-807.

SIDRIM, J.J.C. & ROCHA, M.F.G. 2004. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. 1ª ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 408p.

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

SCOTT, D.W., MULLER, W.H., GRIFFIN, C.E. 2001. Small animal dermatology. 6ª ed. Editora Elsevier, Pensilvania. 1526p.

STARK, D. R. Primary gastrointestinal histoplasmosis in a cat. Journal of the American Animal Hospital Association, v. 18, p. 154-156, 1982.

TABOADA, J. Histoplasmosis. In: The Merck Veterinary Manual, 2014. Disponível em: <http://www.merckvetmanual.com/mvm/generalized_conditions/fungal_infections/histoplasmosis.html>. Acesso em: 10 de outubro de 2019.

TYRE, E.; EISENBART, D.; FOLEY, P.; et al. Histoplasmosis in a dog from New Brunswick. The Canadian Veterinary Journal, v. 48, p. 734-736, 2007.

UEJO, S. K. A., 2012. Histoplasmose cerebral. Disponível em: <<http://anatpat.unicamp.br/rpghistoplasmose1r.html>>. Acesso em: 21 de novembro de 2019.

VALENTE, P. C. L. G. Avaliação dos métodos diagnósticos e dos parâmetros hematológicos nas hemoparasitoses caninas no estado de Minas Gerais. Dissertação de mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, p. 58. 2014.

WHEAT, J. Endemic Mycoses in AIDS : a Clinical Review. v. 8, n. 1, p. 146–159, 1995

WHEAT, L. J. et al. Clinical Practice Guidelines for the Management of Patients with Histoplasmosis : 2007 Update by the Infectious Diseases Society of America. v. 45, 2007.

WHITTEMORE, J.C.; WEBB, C.B. Successful treatment of nasal sporotrichosis in a dog. Can. Vet. J., v.48, p.411-414, 2007.