

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

RODRIGO CRUZ ALVES

MUCORMICOSE E CANDIDÍASE EM CÃES

PATOS-PB

2019

RODRIGO CRUZ ALVES

Mucormicose e Candidíase em cães

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas

Coorientador: Prof. Dr. Glauco José Nogueira de Galiza

Patos/PB
2019

A474m Alves, Rodrigo Cruz.
Mucormicose e candidíase em cães / Rodrigo Cruz Alves. – Patos,
2019.
43 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Saúde Animal) – Universidade
Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2019.

"Orientação: Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas, Prof. Dr.
Glauco José Nogueira de Galiza".

Referências.

1. Doenças de Cães. 2. Cães – Mucormicose e Candidíase.
3. Imunossupressão. 4. Micoses Oportunistas – Cães. 5. Cães – Fungos
Mucolares. I. Dantas, Antônio Flávio Medeiros. II. Galiza, Glauco José
Nogueira de. III. Título.

CDU 619:616(043)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

RODRIGO CRUZ ALVES

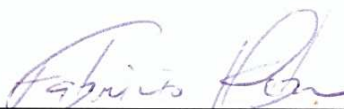
Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

APROVADO EM 22/02/2019

EXAMINADORES:



Prof. Dr. Antônio Flávio Medeiros Dantas
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFMG
Presidente (Orientador)



Prof. Dr. Fabrício Kleber de Lucena Carvalho
Faculdade Integrada de Patos /FIP-Patos-PB
Membro Externo



Profa. Dra. Maria Talita Soares Frade
Universidade Federal do Oeste da Bahia/UFOB-Barra/BA
Membro Externo

Dedicatória

*Aos meus irmãos Lidiane, Luciana e Romario,
O amor de vocês me encoraja a seguir e enfrentar todas as adversidades.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por se fazer presente em todos os momentos da minha vida me concedendo mais uma conquista.

Aos meus pais Rumeu (*in memorian*) e Lucia (*in memorian*), por todos os ensinamentos, o legado de vocês orientam a minha vida até hoje. Eu sempre sinto a presença e o amor de vocês perto de mim. Continuo firme e forte em busca dos NOSSOS sonhos.

A minha irmã Lidiane, por me tratar com tanto zelo, amor e incentivo, me fazendo ir além, minha caminhada não seria a mesma sem você. A minha irmã Luciana, por tudo que você fez e tem feito por nós. Não há palavras para expressar tamanha gratidão. Ao meu irmão Romario, pelo apoio e companheirismo. Minha família, amo vocês!

As minhas amadas sobrinhas Anne Sophia (afilhada) e Sarah Louise, que transbordam os nossos dias com tanta felicidade.

Ao meu avô Francisco (Chico Dade), por todo afeto e amor a mim transmitido. A todos meus familiares, em especial aos meus tios Franciêdo, Francimário, Fábio, Francisco, Fabiano, Aparecida, Luzenilda, Leonice e Leonides.

A minha namorada Madlliza, seu companheirismo e apoio durante todos esses anos me ajudaram a chegar até aqui. Amo você!

Aos meus cunhados Josivaldo e Gildean, pelo carinho e amizade, estendendo a mão nas horas em que mais necessitei. Obrigado por tudo que vocês fizeram por mim!

Ao Laboratório de Patologia Animal (LPA), minha segunda casa, lugar onde pude aprender e crescer durante todos esses anos. Aos pós-graduandos que já passaram Eduardo, Fabricio, Robério, Jackson, Talita e Lisanka, obrigado por todo o apoio que me deram no início, vocês permanecem como referências para mim. Os que continuam Jussara, Luana, Erick, Millena, Flaviane, Raquel, Jefferson, Ismael e Gian, obrigado pela amizade e por todos os momentos de aprendizado e diversão, dividir a rotina com vocês foi de grande valia. Em especial, a Édipo por toda ajuda nos momentos em que precisei, muito obrigado. A Telma e Aline, por toda convivência durante os anos que dividimos a rotina e pela amizade. E também a todos os estagiários que nos ajudam durante a rotina do LPA.

A todos os setores do Hospital Veterinário (HV), em especial a Clínica Médica de Pequenos Animais, pelo trabalho conjunto na realização desse trabalho. A todos os funcionários que já colaboraram e que ainda colaboram para a manutenção da rotina do HV, em especial Seu Edinho, Dona Joana, Seu Cuité e Seu Erivaldo.

A Maria das Neves (madrinha), pelas palavras de carinho, conselhos e cuidado comigo. Sua bondade e simplicidade, me fizeram recordar das boas lembranças de casa e do convívio com meus pais. Muito obrigado!

A Seu Severino e Dona Socorro, por me receberem em sua casa e sempre me tratarem como um filho com sorriso largo no rosto.

Aos amigos que fiz durante os anos em que morei em Patos, João Rodrigues, Eduardo, João Simões, Mikael e Marcelo, a convivência com vocês me ajudou bastante e amenizou a saudade de casa. Em especial a Laio e Clédson, a nossa amizade ultrapassou os limites da universidade, estendendo-se ao convívio das nossas famílias, nos tornando verdadeiros irmãos, agradeço a Deus pela amizade de vocês.

Ao Laboratório de Patologia Veterinária da UFSM, em especial a professora Glaucia Kommers pelo apoio e colaboração nesse trabalho. Muito obrigado!

Ao professor Glauco Galiza, por todos os conhecimentos repassados, orientação e contribuição efetiva no desenvolvimento desse trabalho. Muito obrigado!

Ao professor Antônio Flávio, pela oportunidade de participar da rotina do LPA, orientação, incentivo, paciência, apoio e confiança na elaboração deste trabalho. Os seus ensinamentos estimularam o meu amor pela Patologia e contribuíram significativamente para minha formação em todos os sentidos. Ao senhor, todo o meu carinho e gratidão!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

E finalmente, agradeço a todos que ajudaram direta ou indiretamente. **MUITO OBRIGADO** a todos vocês!

SUMÁRIO

	Páginas
RESUMO	9
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS	15
CAPÍTULO I - Mucormicose sistêmica e hepatogástrica em cães	16
1 RESUMO	18
2 REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO II - Candidíase sistêmica associada a cinomose em cães	28
1 ABSTRACT	29
2 RESUMO	30
3 INTRODUÇÃO	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
5 RESULTADOS	31
6 DISCUSSÃO	38
7 CONCLUSÃO	40
8 REFERÊNCIAS	40
CONCLUSÃO GERAL	43

RESUMO

Ultimamente, as doenças fúngicas tem sido responsáveis por elevada mortalidade na espécie canina. A zigomicose e a candidíase estão inseridas entre as principais micoses que eventualmente podem provocar infecções sistêmicas e fatais em indivíduos imunossuprimidos. Esta Dissertação, foi elaborada em dois capítulos, composta por dois artigos originais. O primeiro submetido à *Journal of Comparative Pathology* relata dois casos de infecções por fungos da ordem Mucorales com envolvimento sistêmico e hepatogástrico em cães, descrevendo os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos. A doença ocorreu em cães Poodle, machos com idade de um e dez anos. As alterações clínicas incluíam sinais respiratórios, neurológicos e gastrointestinais que progrediram evoluindo para morte em três a dezenove dias. Macroscopicamente, no caso 1, havia áreas irregulares amareladas ou avermelhadas e elevadas que aprofundavam-se ao corte nos pulmões, coração e encéfalo. No caso 2, as alterações consistiam em ruptura de estômago com bordos e mucosa gástrica recobertos por espesso material brancacento e friável, além de múltiplas áreas extensas nodulares e cavitações profundas amarelo-brancacentas na superfície capsular do fígado. Histologicamente, foram observados piogranulomas em todos os órgãos afetados, associados a hifas fúngicas, vasculite e trombose. O diagnóstico de mucormicose foi realizado através das lesões microscópicas associadas às características morfotintoriais das hifas. As hifas foram fortemente imunomarcadas pelo anticorpo monoclonal anti-*Rhizopus arrhizus*. O segundo artigo, foi submetido à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, descreve os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos de três casos de candidíase sistêmica associada a cinomose em cães. Os cães acometidos tinham idade de quatro meses a cinco anos. Desses, dois eram cães sem raça definida e um Poodle. As manifestações clínicas eram predominantemente neurológicas, seguidas de alterações inespecíficas com evolução de cinco a trinta dias. Na necropsia havia áreas branco-amareladas circundadas por bordas avermelhadas nos rins, coração, fígado, linfonodo submandibular e pulmão. Adicionalmente, no caso 2, havia material grumoso brancacento aderido à superfície epicárdica, artéria aorta, saco pericárdico e baço. Além de infarto no testículo direito, hidroureter, pielonefrite e hidronefrose. No caso 1, havia aumento da articulação carpo-metacárpica direita com conteúdo avermelhado e turvo. No encéfalo, as lesões caracterizavam-se por áreas enegrecidas e/ou avermelhadas e friáveis. Microscopicamente, as lesões consistiam em áreas de necrose e hemorragia, circundadas por neutrófilos associada a vasculite, congestão, trombose, infarto e fungos com vários padrões morfológicos que incluíam leveduras, pseudo-hifas e hifas. Os três cães estavam imunossuprimidos decorrente da infecção concomitante pelo vírus da cinomose canina. Os casos 2 e 3 foram diagnosticados ainda com dermatofitose generalizada e linfoma, respectivamente. O diagnóstico de candidíase sistêmica foi realizado através das características morfotintoriais do agente e imunomarcção pelo anticorpo policlonal anti-*Candida albicans*. Com a realização desses trabalhos foi possível constatar que a mucormicose e a candidíase são doenças esporadicamente diagnosticadas na rotina do Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Universitário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa da UFCG. Embora pouco frequentes, essas micoses constituem importantes causas de morte em cães.

PALAVRAS-CHAVE: Doenças de cães; imunossupressão; micoses oportunistas; fungos mucorales; *Candida albicans*.

ABSTRACT

Lately, fungal diseases have been responsible for high mortality in the canine species. The zygomycosis, and candidiasis are inserted between the main mycoses which eventually may cause systemic and fatal infections in immunosuppressed individuals. This Dissertation, was elaborated in two chapters, composed by two original articles. The first one submitted to the Journal of Comparative Pathology, describe two cases of fungal infection of the order Mucorales with systemic and hepatogastric involvement in dogs. The disease occurred in Poodle dogs, males aged one and ten years. The clinical signs included respiratory, neurological and gastrointestinal symptoms that progressed to death in three and nineteen days. Macroscopically, in case 1, there were irregular yellowish or reddish raised areas that deepened the cut in the lungs, heart and brain. In case 2, the alterations consisted of rupture of the stomach with borders and gastric mucosa covered by a thick and whitish, but also friable material, in addition to multiple extensive nodular areas and deep white-yellowish cavitations on the capsular surface of the liver. Histologically, piogranulomas were observed in all affected organs, associated with fungal hyphae, vasculitis and thrombosis. The diagnosis of mucormycosis was based on the microscopic lesions associated with the morphotinctorial features of the hyphae. The hyphae were strongly immunomarked by the anti-*Rhizopus arrhizus* monoclonal antibody. The second article, was submitted to the journal Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, describes the epidemiological, clinical and pathological aspects of three cases of systemic candidiasis associated with distemper in dogs. The affected dogs were between four months and five years. Of these, two were without defined breed dogs and one Poodle. The clinical manifestations were predominantly neurological, followed by nonspecific changes with evolution from five to thirty days. At necropsy there were yellowish-white areas surrounded by reddish edges in the kidneys, heart, liver, submandibular lymph node and lung. In addition, in case 2, there were lumpy materials whitish adhered to the epicardial surface, aortic artery, pericardial sac and spleen. In addition to infarction in the right testicle, hydroureter, pyelonephritis and hydronephrosis. In case 1, there was an increase in the right carpal-metacarpal joint, that when cutting reddish and cloudy content flowed. In the encephalon, the lesions were characterized by blackened and/or reddish and friable areas. Microscopically, the lesions consisted of areas of necrosis and hemorrhage, surrounded by neutrophils associated with vasculitis, congestion, thrombosis, infarction, and fungi with various morphological patterns including yeasts, pseudo-hyphae and hyphae. The three dogs were immunosuppressed due to the concomitant infection with the distemper virus. Cases 2 and 3 were diagnosed still with generalized dermatophytosis and lymphoma, respectively. The diagnosis of systemic candidiasis was made through the morphotinctorial characteristics of the agent and immunostaining by the polyclonal anti-*Candida albicans* antibody. With the accomplishment of these works it was possible to verify that mucormycosis and candidiasis are diseases sporadically diagnosed in the routine of the Laboratório de Patologia Animal of the Hospital Veterinário Universitário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa of the UFCG. Although uncommon, these mycoses are important causes of death in dogs.

KEY-WORDS: Diseases of dogs; immunosuppression; opportunistic mycoses; mucoral fungi; *Candida albicans*.

LISTA DE FIGURAS

Páginas

CAPÍTULO I - Mucormicose sistêmica e hepatogástrica em cães

- FIGURA 1** - Mucormicose sistêmica e hepatogástrica em cães. A) Caso 1. Observa-se área focal amarelada levemente elevada no endocárdio do ventrículo esquerdo. B) Caso 2. Superfície capsular do fígado com múltiplas cavitações profundas de bordos irregulares e friáveis, ocasionalmente recobertas por coágulos sanguíneos. 20
- FIGURA 2** - Mucormicose sistêmica e hepatogástrica em cães. A) Corte histológico do fígado mostrando numerosas hifas com paredes eosinofílicas longitudinais (setas) e transversais (cabeça de seta) circundadas por infiltrado de células gigantes multinucleadas e neutrófilos. HE. Barra, 20µm. B) Secção do fígado mostrando numerosas hifas intensamente impregnadas em preto. GMS. Barra, 50µm. Detalhe: Hifas fortemente positivas para anticorpo monoclonal anti-*Rhizopus arrhizus*, IHQ, DAB. Barra, 20µm. 22

CAPÍTULO II - Candidíase sistêmica associada a cinomose em cães

- FIGURA 1** - Candidíase sistêmica em cães. A) Rim. Observam-se áreas multifocais a coalescente, arredondadas, amareladas delimitadas por bordas avermelhadas, friáveis e elevadas. B) Articulação carpo-metacárpica direita. Observa-se conteúdo avermelhado e levemente turvo. C) Testículo direito. Superfície de corte difusamente avermelhada. D) Encéfalo. Superfície de corte com assimetria do tálamo direito, com área focalmente extensa enegrecida e pouco delimitada. E) Coração. Superfície epicárdica com deposição de material brancento e irregular predominantemente na região próxima ao ápice entremeado por ocasionais nódulos firmes e amarelo-brancentos (cabeça de seta). F) Rim. Superfície de corte com dilatação acentuada da pelve e cálices com deposição de material amarelado..... 33
- FIGURA 2** - Candidíase sistêmica em cães. A) Encéfalo. Múltiplos vasos sanguíneos com parede espessada por detritos celulares necróticos e infiltrado neutrofilico associados a trombos, além de vacuolização do neurópilo adjacente. HE. Barra = 50 µm. B) Testículo. Necrose de coagulação difusa dos túbulos seminíferos (asterisco) associada a hemorragia e trombo (cabeça de seta). HE. Barra = 50 µm. C) Rim. Numerosas hifas no tufo glomerular (seta). HE. Barra = 20 µm. D) Fígado. Estruturas fúngicas filamentosas (seta) e leveduriformes (cabeça de seta) com parede discretamente basofílica circundadas por discreto infiltrado neutrofilico. HE. Barra = 10 µm. E) Fígado. Múltiplos fungos impregnados em preto correspondendo a leveduras (cabeça de seta) e pseudo-hifas (seta vazada) localizadas ao centro e

hifas (seta) vistas perifericamente. GMS. Barra = 20 μ m. F) Fígado.
Hifas fortemente positivas para anticorpo policlonal anti-*Candida albicans*, IHQ, DAB. Barra = 10 μ m.....

LISTA DE TABELAS

	Páginas
CAPÍTULO II - Candidíase sistêmica associada a cinomose em cães	
TABELA 1 - Dados epidemiológicos, sinais clínicos e evolução de casos de candidíase em cães diagnosticados no LPA-UFCG.....	32
TABELA 2 - Padrões de lesões macroscópicas observadas de acordo com os órgãos afetados nos casos de candidíase em cães diagnosticados no LPA-UFCG.	33

INTRODUÇÃO GERAL

As doenças fúngicas encontram-se cada vez mais frequentes nos últimos anos e são responsáveis por elevada mortalidade em seres humanos e animais domésticos, especialmente os cães (Garcia e Blanco, 2000; Guarner e Brandt, 2011; Galiza et al., 2014). Várias micoses são constantemente diagnosticadas na espécie canina, sendo a maioria restrita à infecções superficiais das mucosas e pele (Mauldin e Peters-Kennedy, 2016), causadas por fungos saprófitos ou comensais (Markey et al., 2013). Porém, algumas dessas micoses podem provocar raramente infecções invasivas e fatais em indivíduos imunossuprimidos, sendo designadas como oportunistas (Hargis e Myers, 2017). A zigomicose e a candidíase permanecem entre as principais micoses oportunistas para os animais (Galiza et al., 2014; Mauldin e Peters-Kennedy, 2016).

O termo zigomicose refere-se às infecções causadas por fungos saprófitos pertencentes à classe Zygomycetes, que inclui as ordens Mucorales e Entomophthorales. Estas ordens compreendem um número de fungos específicos (Grooters e Foil, 2015). A ordem Mucorales inclui os gêneros *Rhizopus*, *Mucor*, *Saksenaea* e *Lichtheinia* (Ribes et al., 2011), que comumente causam doenças agudas e progressivas em hospedeiros debilitados ou imunocomprometidos (Sykes, 2014). As infecções por fungos dessa ordem são consideradas extremamente raras em cães (Shirani et al., 2008; Mauldin e Peters-Kennedy, 2016).

Candidíase é uma infecção causada por leveduras do gênero *Candida*, que normalmente colonizam as mucosas do trato gastrointestinal, respiratório e urogenital, além da pele de inúmeras espécies de animais e seres humanos (Giuffrida, 2016). Essas infecções são geralmente superficiais, limitadas as mucosas e a pele (Verduyn Lunel et al., 1999), contudo os fungos tornam-se patogênicos quando transpõem os mecanismos de defesa do hospedeiro (Giuffrida, 2016), resultando em invasão tecidual com lesões disseminadas (Sykes, 2014). A forma sistêmica da candidíase é relatada esporadicamente, sobretudo em cães imunossuprimidos (Giuffrida, 2016; Souto et al., 2018).

Desta forma, em razão da escassez de trabalhos que abordam especificamente tais doenças, essa dissertação tem como objetivo descrever os principais aspectos epidemiológicos, clínicos e anatomopatológicos de casos de infecções sistêmicas por fungos da ordem Mucorales e do gênero *Candida* sp. em cães diagnosticados no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Universitário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba.

REFERÊNCIAS

- GALIZA, G.J.N.; SILVA, T.M.; CAPRIOLI, R.A.; BARROS, C.S.L.; IRIGOYEN, L.F.; FIGHERA, R.A.; LOVATO, M.; KOMMERS, G.D. Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230 casos. **Pesq.Vet. Bras.** 34:224-232. 2014.
- GARCIA, M.E.; BLANCO J.L. Principales enfermedades fúngicas que afectan a los animales domésticos. **Ver. Iber. Micol.** 17:2-7. 2000.
- GIUFFRIDA, R. Enfermidades pelo gênero *Candida*. In.: MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C. **Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia**. 1ed. Roca, Rio de Janeiro. 2016. p.907-910.
- GROOTERS, A.M.; FOIL, C.S. Infecções fungicas diversas. In.: GREENE, C.E. **Doenças Infecciosas em cães e gatos**. 4th ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2015. p.1485-1515.
- GUARNER, J.; BRANDT, M.E. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st Century. **Clin. Microbiol. Rev.** 24:247-280. 2011.
- HARGIS, A.M.; MYERS, S. The Integument. In.: ZACHARY, J.F. **Pathologic basis of veterinary disease**. 6th ed. Elsevier, Saint Louis. 2017. p.1079-1084.
- MARKEY, B.; LEONARD, F.; ARCHAMBAULT, M.; CULLINANE, A.; MAGUIRE, D. **Clinical Veterinary Microbiology**. 2th ed. Elsevier, London. 2013. p.901.
- MAULDIN, E.A.; PETERS-KENNEDY, J. Integumentary System. In.: MAXIE, M.G. **Jubb, Kennedy and Palmer's. Pathology of Domestic Animals**, 6th ed. Vol. 1. Elsevier, Saint Louis. 2016. p.646-660.
- RIBES, J.A.; VANOVER-SAMS, C.L.; BAKER, D.J. Zygomycetes in human disease. **Clin. Microbiol. Rev.** 13:236-301. 2000.
- SHIRANI, D.; GHAFFARI M.S.; KHOSRAVI AR.; VAJHI, A.R.; KHORAMI, N. An unusual case of nasal mucormycosis caused by *Rhizopus oryzae* in a German shepherd dog. **Iran. J. Vet. Res.** 9:378-380. 2008
- SOUTO, E.P.F.; FRADE, M.T.S.; BORGES, I.L.; TORRES, L.M.; KOMMERS, G.D.; GALIZA, G.J.N.; RIET-CORREA, F.; DANTAS, A.F.M. Cerebral *Candida albicans* Infection in Two dogs. **Act. Sci. Vet.** 46:1-6. 2018.
- SYKES, J.E. **Canine and feline infectious diseases**. Elsevier, St. Louis, Missouri. 2014. p.915.
- VERDUYN LUNEL, F.M.; MEIS, J.F.; VOSS, A. Nosocomial fungal infections: candidemia **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.** 34:213-220. 1999.

CAPÍTULO I

Mucormicose sistêmica e hepatogástrica em cães

Trabalho submetido à revista *Journal of Comparative Pathology*
(Qualis B1)

Mucormicose sistêmica e hepatogástrica em cães

R. C. Alves*, J. S. Ferreira*, A. S. Alves*, L. A. Maia[§], V. Dutra[†], A. P. Souza*, G. J. N. Galiza*, A. F. M. Dantas*

*Hospital Veterinário, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil,

[§]Instituto Federal de Ensino Básico, Técnico e Tecnológico da Paraíba, Sousa, Paraíba, Brasil,

[†]Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.

Correspondência para: R. C. Alves (e-mail: rodrigo_cruz90@live.com).

Resumo

Descrevem-se os aspectos epidemiológicos, clínicos, patológicos de dois casos de infecção por fungos da ordem Mucorales com envolvimento sistêmico e hepatogástrico em cães. A doença ocorreu em cães Poodle, machos com idade de um e dez anos. As alterações clínicas incluíam sinais respiratórios, neurológicos e gastrointestinais que progrediram evoluindo para morte em três a 19 dias. Macroscopicamente observavam-se lesões em órgãos da cavidade abdominal, torácica e sistema nervoso central. No caso 1, havia envolvimento sistêmico afetando os pulmões, coração e encéfalo, sendo as lesões caracterizadas por áreas irregulares discretamente amareladas ou avermelhadas e elevadas que se aprofundavam ao corte. No caso 2, as alterações consistiam em ruptura de estômago com bordos e mucosa gástrica recobertos por espesso material brancacento e friável, além de múltiplas áreas extensas nodulares e cavitações profundas amarelo brancacentas na superfície capsular do fígado caracterizando a forma hepatogástrica. Histologicamente, foram observados piogranulomas em todos os órgãos afetados, associados a hifas fúngicas, vasculite e trombose. O diagnóstico de mucormicose foi realizado através das lesões microscópicas associadas às características morfotintoriais das hifas. As hifas foram fortemente imunomarcadas pelo anticorpo monoclonal anti-*Rhizopus arrhizus*. Conclui-se que a mucormicose é uma doença incomum e fatal em cães de caráter insidioso com manifestação clínica aguda e progressiva caracterizada por envolvimento sistêmico e hepatogástrico associadas a imunossupressão, devendo ser incluída no diagnóstico diferencial de doenças que cursam com sinais neurológicos, pulmonares e gástricos.

Palavras-chave: doenças de cães; fungos mucorales; imunossupressão; angioinvasivo

Mucormicose refere-se ao conjunto de micoses causadas por uma ampla variedade de fungos saprófitos e potencialmente angioinvasivos pertencentes à classe Zygomycetes, ordem Mucorales e família Mucoraceae das quais incluem espécies dos gêneros *Lichtheinia* (anteriormente *Absidia*), *Rhizomucor*, *Saksenaea*, *Rhizopus* e *Mucor* (Ribes *et al.*, 2000), descritos como patógenos oportunistas em animais e humanos (Grooters e Foil, 2015; Richa *et al.*, 2017), provocando doença aguda e progressiva em hospedeiros debilitados ou imunocomprometidos (Grooters e Foil, 2015). As infecções podem ocorrer por via respiratória, digestiva ou cutânea (Grooters, 2003).

A infecção por fungos da ordem Mucorales é considerada extremamente rara nos animais domésticos, especialmente em cães (Shirani *et al.*, 2008; Mauldin e Peters-Kennedy, 2016), sendo os relatos direcionados a descrições de casos esporádicos com sinais clínicos

correlacionados com a localização da infecção refletindo a porta de entrada, incluindo as formas cutânea e/ou subcutânea (Awadin *et al.*, 2015; Reynaldi *et al.*, 2017), nasal (Shirani *et al.*, 2008), pulmonar, gastrointestinal (Galiza *et al.*, 2014a) e cerebral (Frade *et al.*, 2018). Embora sejam descritos algumas formas da infecção na espécie canina, dados acerca de sua ocorrência ainda permanecem escassos. Desta forma, o objetivo deste trabalho é descrever as características epidemiológicas, clínicas e patológicas de dois casos de infecções por fungos da ordem Mucorales com envolvimento sistêmico e hepatogástrico em cães.

Ambos os cães afetados eram da raça Poodle, machos, sendo um de dez anos de idade (caso 1) e outro de um ano de idade (caso 2). No caso 1, as manifestações clínicas caracterizaram-se por anorexia, apatia, ataxia e decúbito lateral com evolução de três dias. Devido a complicações no quadro clínico o animal morreu no atendimento, após parada cardiorrespiratória.

No caso 2, o animal foi atendido em uma clínica veterinária particular com histórico de tosse seca durante seis dias, sendo prescrito dexametasona (0,4 mg/kg, seis dias). Posteriormente, o animal foi encaminhado ao Hospital Veterinário com apatia, anorexia, diarreia, cansaço, dispneia mista, som de crepitação à ausculta pulmonar e dor à palpação abdominal. Foram prescritos prednisolona (1mg/kg, dez dias) e doxiciclina (8 mg/kg, oito dias). Após treze dias de tratamento o animal retornou e morreu durante o atendimento. Os animais viviam em regime domiciliar e apenas o cão do caso 2 tinha acesso à rua e era vacinado contra a raiva e demais doenças víricas e bacterianas.

Macroscopicamente observavam-se lesões em órgãos da cavidade abdominal, torácica e sistema nervoso central. No caso 1, os pulmões estavam não colapsados com áreas multifocais irregulares amareladas ou vermelho-enebrecidas com contornos amarelados na superfície pleural, ao corte eram firmes e aprofundavam-se ao parênquima. No coração havia área focal amarelada e discretamente elevada no ápice do ventrículo esquerdo, que se estendia do epicárdio até o endocárdio próximo ao músculo papilar, medindo 1 cm de diâmetro (Fig. 1A). No encéfalo, o córtex frontal direito apresentava-se aumentado de volume com área extensa avermelhada e irregular, que se aprofundava ao corte, associada à congestão dos vasos das leptomeninges.

No caso 2, havia na cavidade abdominal aproximadamente 200mL de líquido avermelhado com material granular branco-amarelado. No estômago observou-se área focalmente extensa de ruptura localizada na região do cárdia, que se estendia até a fúndica com aderências ao fígado e diafragma. Os bordos da ruptura eram avermelhados recobertos por espesso material brancacento e friável. Material semelhante era observado recobrendo a mucosa

gástrica adjacente à ruptura. No fígado observavam-se áreas multifocais a coalescente extensas amarelo brancacentas discretamente elevadas na superfície capsular, por vezes, com cavitações profundas com bordos irregulares e friáveis, medindo entre 1,5 a 4,5 cm de diâmetro, ocasionalmente recobertas por coágulos (Fig. 1B). Ao corte, essas áreas aprofundavam-se ao parênquima com superfície brancacenta de aspecto granular.

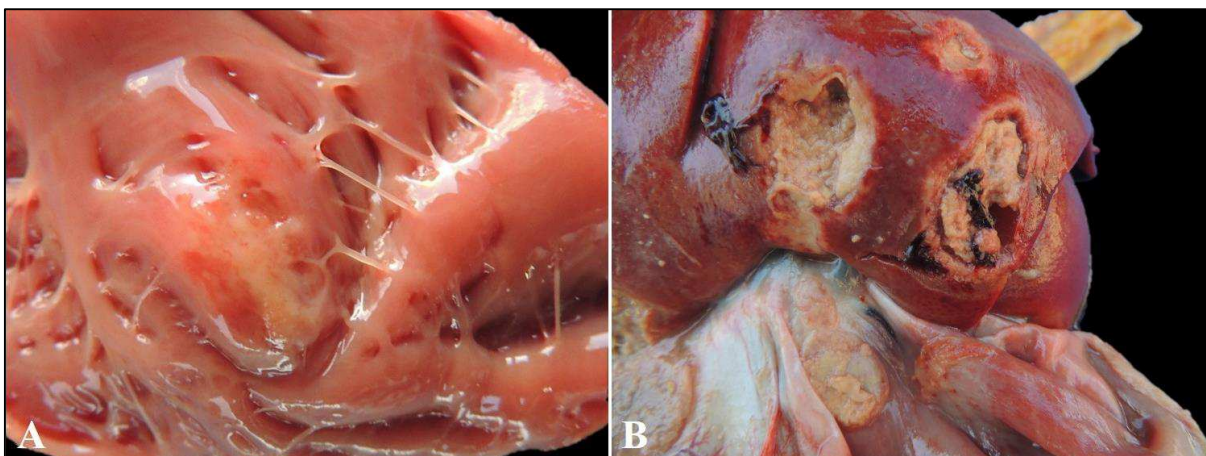


Fig. 1. Mucormicose sistêmica e hepatogástrica em cães. A) Caso 1. Observa-se área focal amarelada levemente elevada no endocárdio do ventrículo esquerdo. B) Caso 2. Superfície capsular do fígado com múltiplas cavitações profundas de bordos irregulares e friáveis, ocasionalmente recobertas por coágulos sanguíneos.

Fragmentos de tecidos das cavidades abdominal e torácica, bem como sistema nervoso central (SNC), foram coletados, fixados em formol a 10% tamponado, processados rotineiramente e corados com hematoxilina e eosina (HE). Técnicas histoquímicas, incluindo as colorações de metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS) e ácido periódico de Schiff (PAS), foram empregados para evidenciação do agente e suas características morfológicas.

Blocos de parafina contendo fragmentos de cérebro (caso 1) e fígado (caso 2) foram processados para imuno-histoquímica (IHQ) utilizando o anticorpo primário monoclonal anti-*Rhizopus arrhizus* (Clone WSSA-RA-1, AbD Serotec®, Bio-Rad, São Paulo, Brasil). A técnica foi semelhante à descrita por Galiza *et al.* (2014b).

Histologicamente, no caso 1 observavam-se áreas multifocais extensas de necrose no pulmão, circundadas por acentuado infiltrado inflamatório piogranulomatoso. Também foram observadas áreas de hemorragia, congestão e edema interalveolar moderado, associado a hifas intralesionais, vasculite e trombose em vários vasos contendo hifas. Adicionalmente, observava-se infiltrado inflamatório semelhante no lúmen de brônquios e bronquíolos, por vezes, com necrose do epitélio associado a hifas. No coração visualizava-se área focalmente

extensa de necrose de coagulação das fibras musculares com hemorragia discreta circundada por acentuado infiltrado inflamatório piogranulomatoso associado a hifas.

No córtex frontal, havia acentuado espessamento das leptomeninges por infiltrado inflamatório formado principalmente por neutrófilos, linfócitos e plasmócitos que circundavam vasos sanguíneos e estendia-se a substância cinzenta adjacente. No neurópilo, observavam-se áreas multifocais a coalescente de moderado infiltrado inflamatório piogranulomatoso que circundavam vasos da substância branca e cinzenta. Observou-se também hemorragia e, por vezes com vasculite e formação de trombos e hifas ocluindo a luz de vasos. No tálamo, observou-se área focalmente extensa de malácia com rarefação e cavitações preenchidas por numerosos macrófagos espumosos (células *gitter*) e neutrófilos associada a hifas. No córtex temporal, observavam-se áreas multifocais de discreta desmielinização e inclusões intranucleares eosinofílicas em células endimárias compatíveis com infecção pelo vírus da cinomose canina.

No caso 2, observou-se área focalmente extensa de necrose na mucosa do estômago que se estendia a serosa (transmural) circundada por acentuado infiltrado inflamatório neutrofilico, macrófagos epitelioides, linfócitos, plasmócitos e ocasionais células gigantes multinucleadas, além de pequenos piogranulomas associados à hifas intralesionais. Também foi observada acentuada proliferação de tecido conjuntivo fibroso, discreta hemorragia e vasos com formações de trombos contendo hifas fúngicas. No fígado observavam-se áreas multifocais a coalescente de necrose circundadas por acentuado infiltrado inflamatório semelhante ao estômago.

Em cortes corados pela HE as hifas possuíam paredes eosinofílicas ou apresentavam-se como imagens negativas tubuliformes em cortes longitudinais e transversais (Fig. 2A). Pelo GMS verificaram-se hifas intensamente impregnadas em preto (Fig. 2B). Pelo PAS as hifas foram fortemente coradas em rosa. Morfologicamente as hifas eram largas com diâmetro variando de 4-20µm, raramente septadas, com paredes tortuosas e ramificações irregulares, que ocasionalmente formavam-se projeções dicotômicas ou em 90° graus. Nas lesões pulmonares observavam-se algumas hifas com dilatações balanosas terminais de até 30µm de diâmetro. As hifas foram fortemente positivas para o anticorpo anti-*Rhizopus arrhizus* na imunohistoquímica (Fig. 2B, detalhe).

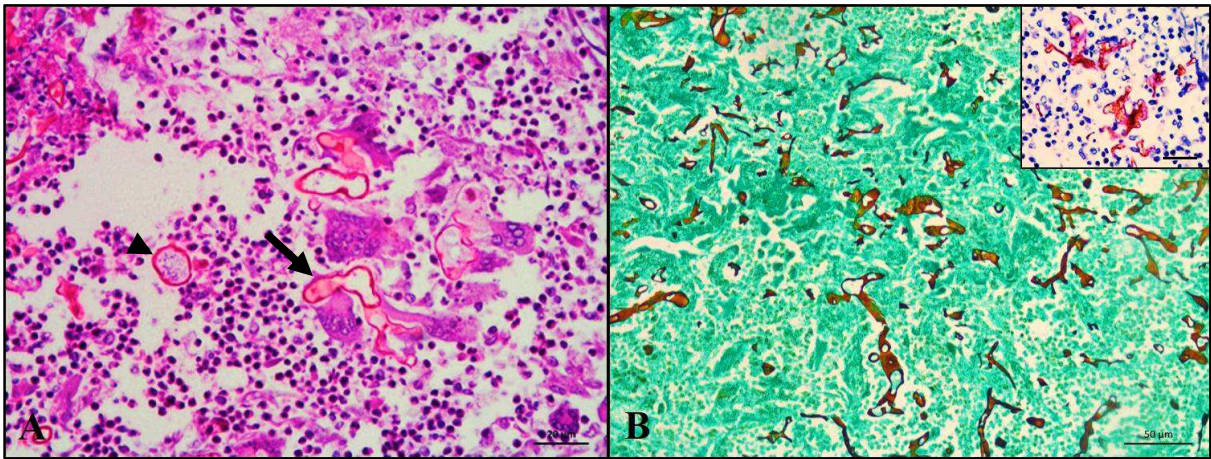


Fig. 2. Mucormicose sistêmica e hepatogástrica em cães. A) Corte histológico do fígado mostrando numerosas hifas com paredes eosinofílicas longitudinais (setas) e transversais (cabeça de seta) circundadas por infiltrado de células gigantes multinucleadas e neutrófilos. HE. Barra, 20 μ m. B) Secção do fígado mostrando numerosas hifas intensamente impregnadas em preto. GMS. Barra, 50 μ m. Detalhe: Hifas fortemente positivas para anticorpo monoclonal anti-*Rhizopus arrhizus*, IHQ, DAB. Barra, 20 μ m.

O diagnóstico de mucormicose foi realizado através das características morfofintoriais das hifas observadas nas lesões, compatíveis com fungos da classe Zygomycetes, e confirmados pela imuno-histoquímica. Dentre os fungos Mucorales, o gênero *Rhizopus* é o mais comumente isolado nas infecções em humanos (Kwon-Chung, 2012; Dimaka *et al.*, 2014) e relatado em animais (Carrasco *et al.*, 1997; Shirani *et al.*, 2008). Os zigomicetos são organismos saprófitos e facilmente encontrados no solo, matéria orgânica em decomposição e fezes (Ribes *et al.*, 2000). Nesses casos, o contato com o solo em local onde os cães eram mantidos ou o acesso livre a ambientes externos contaminados, provavelmente resultaram na exposição dos animais a um número excessivo de esporos favorecendo a infecção.

As infecções comumente ocorrem por inalação de esporos, inoculação na pele e tecidos subcutâneos por trauma ou ingestão (Grooters, 2003). No caso 1, as lesões extensas visualizadas nos pulmões indicam que a porta de entrada ocorreu pela via respiratória, por meio da inalação de esporos com envolvimento primariamente pulmonar, e secundariamente disseminação hematogena para coração e encéfalo (Cuvalier *et al.*, 1998; Mathur *et al.*, 1999). A disseminação para vários órgãos como observado nesse caso está frequentemente associada a infecção pulmonar, considerada mais frequentemente o sítio primário da infecção (Ribes *et al.*, 2000). Além do envolvimento encefálico pela via hematogena na forma sistêmica da infecção, esses agentes fúngicos podem atingir o encéfalo por extensão de infecções nasais e seios paranasais na forma rinocerebral (Richa *et al.*, 2017) e raramente em infecções isoladas

(Chihaya *et al.*, 1986; Cook *et al.*, 1989). Nas infecções, as lesões são provocadas principalmente pela característica angioinvasiva dos fungos pertencentes ao gênero *Mucorales* que favorecem a formação de trombo, isquemia e infarto nos tecidos afetados (Frater *et al.*, 2001; Eucker *et al.*, 2001). No caso 2, é provável que a infecção tenha ocorrido através da ingestão do agente, com penetração em lesões prévias na mucosa gástrica e o desencadeamento de lesões transmuralis da parede do estômago e aderências hepáticas, evoluindo para ruptura gástrica e peritonite. Características semelhantes são comumente descritas em humanos com envolvimento gástrico e geralmente os sinais clínicos incluem dor e distensão abdominal, além de vômitos (Spellberg *et al.*, 2005).

As formas clínicas hepatogástrica e sistêmica diagnosticadas nesse estudo não tinha sido descritas em cães, sendo a mucormicose considerada extremamente rara nessa espécie (Shirani *et al.*, 2008; Mauldin e Peters-Kennedy, 2016). Os poucos relatos descrevem infecções cutânea e/ou subcutânea (Awadin *et al.*, 2015; Reynaldi *et al.*, 2017), nasal (Shirani *et al.*, 2008), pulmonar, gastrointestinal (Galiza *et al.*, 2014a) e cerebral (Frade *et al.*, 2018). Nas demais espécies domésticas, são relatadas infecções sistêmicas (Cordes e Shortridge, 1968; Vasconcelos e Grahn, 1995; Thirion-Delalande *et al.*, 2005) e localizadas com envolvimento cerebral (Chihaya *et al.*, 1986) gastrointestinal (Chihaya *et al.*, 1988; Jensen *et al.*, 1994; Cunha *et al.*, 2011), pulmonar e cutâneo (Carrasco *et al.*, 1997; López-Sanromán *et al.*, 2000). Em humanos, as manifestações clínicas incluem a forma rinocerebral, a mais comum (Richa *et al.*, 2017), além das formas pulmonar, gastrointestinal, cutânea e disseminada (Eucker *et al.*, 2001; Kennedy *et al.*, 2016).

A infecção e o desencadeamento da doença clínica por fungos da ordem *Mucorales* estão frequentemente associados a condições de imunossupressão (Grooters e Foil, 2015). Nesse relato, a infecção concomitante pelo vírus da cinomose e o uso intensivo de antimicrobianos e corticosteroides observados nos casos 1 e 2, respectivamente, favoreceram a imunossupressão contribuindo para proliferação do agente. Em humanos, a infecção está comumente associada à cetoacidose diabética, neutropenia (Berdai *et al.*, 2016), queimaduras (Chaney *et al.*, 2004), quimioterapias, transplantes de células-tronco (Guarner e Brandt, 2011) e uso de drogas intravenosas (Wingard, 2006). Os microrganismos tendem a causar infecções agudas, rapidamente progressivas e fatais (Eucker *et al.*, 2001). Características semelhantes com base na rápida evolução clínica foram observadas no caso 1, principalmente pelo envolvimento dos pulmões, coração e encéfalo. Diferentemente do caso 2 em que o cão foi tratado por um longo período de tempo e provavelmente pode ter contribuído para evolução crônica com curso

clínico de dezenove dias, afetando primariamente o estômago e secundariamente o fígado. Em ambos os casos, os animais morreram, decorrente da gravidade das lesões.

As características histomorfológicas e morfotintoriais das hifas, tais como a largura variável, raramente septadas, com paredes tortuosas, dobradas e ramificações irregulares e ocasionalmente estruturas esféricas terminais foram essenciais para o diagnóstico histopatológico da mucormicose (Galiza *et al.*, 2014a; Grooters e Foil, 2015). No entanto, outros microrganismos capazes de produzir hifas não pigmentadas no tecido devem ser incluídos no diagnóstico diferencial em casos de mucormicose, principalmente as micoses capazes de causar infecções locais ou sistêmicas. *Aspergillus* spp. apresentam hifas com paredes paralelas, septadas, por vezes ramificações dicotômicas associadas ou não a conidióforos (Souto *et al.*, 2016). Em infecções causadas por *Candida* spp. visualizam-se pequenas estruturas leveduriformes com pseudo-hifa e hifas (Galiza *et al.*, 2014a). As oomicoses causadas por *Pythium insidiosum* e *Lagenidium* spp. provocam principalmente infecções gastrointestinais e cutâneas, sendo as hifas caracterizadas por possuírem paredes paralelas, ramificações irregulares e, por vezes, formando ângulos retos com raras septações e pelo PAS as paredes das hifas são fracamente coradas (Grooters *et al.*, 2003; Frade *et al.*, 2017).

Conclui-se que a mucormicose é uma doença incomum e fatal em cães de caráter insidioso com manifestação clínica aguda e progressiva caracterizada por envolvimento sistêmico e hepatogástrico associadas a imunossupressão, devendo ser incluída no diagnóstico diferencial de doenças que cursam com sinais neurológicos, pulmonares e gástricos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) e à bolsa de produtividade, processo número 309460/2017-4.

Declaração de conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse com relação à publicação deste manuscrito.

Referências

Awadin W, Mosbah E, Youssef ES, El-Satar AA (2015) A Case of Subcutaneous Destructive Facial Swelling in a Dog Caused by Mucor Species. *Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis*, **4**, 1-3.

- Berdai MA, Labib S, Harandou M (2016) Rhinocerebral mucormycosis complicating ketoacidosis diabetes. *La Presse Médicale*, **45**, 145-146.
- Carrasco L, Tarradas MC, Gomez-Villamandos JC, Luque I, Arenas A *et al.* (1997) Equine pulmonary mycosis due to *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer*. *Journal of Comparative Pathology*, **117**, 191-199.
- Chaney S, Gopalan R, Berggren RE (2004) Pulmonary *Pseudallescheria boydii* infection with cutaneous zygomycosis after near drowning. *Southern Medical Journal*, **97**, 683-687.
- Chihaya Y, Matsukawa K, Mizushima S, Matsui Y (1988) Ruminant forestomach and abomasal mucormycosis under rumen acidosis. *Veterinary Pathology*, **25**, 119-123.
- Chihaya Y, Matsukawa K, Okada H (1986) A case of bovine cerebral mucormycosis. *Journal of Veterinary Medical Science*, **48**, 1271-1274.
- Cook BA, White CB, Blaney SM, Bass JW (1989) Survival after isolated cerebral mucormycosis. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, **11**, 330-333.
- Cordes DO, Shortridge EH (1968) Systemic phycomycosis and aspergilosis of cattle. *New Zealand Veterinary Journal*, **16**, 65-80.
- Cunha SCS, Agüero C, Damico CB, Corgozinho KB, Souza HJ *et al.* (2011) Duodenal perforation caused by *Rhizomucor* species in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **13**, 205-207.
- Cuvalier I, Vogelaers D, Peleman R, Benoit D, Van Marck V *et al.* (1998) Two cases of disseminated mucormycosis in patients with hematological malignancies and literature review. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, **17**, 859-863.
- Dimaka K, Mallis A, Naxakis SS, Marangos M, Papadas TA *et al.* (2014) Chronic rhinocerebral mucormycosis: a rare case report and review of the literature. *Mycoses*, **57**, 699-702.
- Eucker J, Sezer O, Graf B, Possinger K (2001) Mucormycoses. *Mycoses*, **44**, 253-260.
- Frade MTS, Diniz PVN, Olinda RG, Maia LA, Galiza GJN *et al.* (2017) Pythiosis in dogs in the semiarid region of Northeast Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **37**, 485-490.
- Frade MTS, Ferreira JS, Nascimento MJR, Aquino VVF, Macêdo IL *et al.* (2018) Doenças do sistema nervoso central em cães. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **38**, 935-948.
- Galiza GJN, Silva TM, Caprioli RA, Barros CSL, Irigoyen LF *et al.* (2014a) Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **34**, 224-232.
- Galiza GJN, Tochetto C, Rosa FB, Panziera W, Silva TM *et al.* (2014b) Utilização de três métodos imuno-histoquímicos na detecção de aspergilose e zigomicose em animais. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **34**, 637-642.

- Grooters AM (2003) Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **33**, 695-720.
- Grooters AM, Foil CS (2015) Infecções fungicas diversas. In: *Doenças Infecciosas em cães e gatos*, 4th Edit., CE Greene, Ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 1485-1515.
- Grooters AM, Hodgins EC, Bauer RW, Detrisac CJ, Znajda NR *et al.* (2003) Clinicopathologic Findings Associated with *Lagenidium* sp. Infection in 6 Dogs: Initial Description of an Emerging Oomycosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **17**, 637-646.
- Guarner J, Brandt ME (2011) Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st Century. *Clinical Microbiology Reviews*, **24**, 247-280.
- Jensen HE, Olsena SN, Aalbe B (1994) Gastrointestinal Aspergillosis and Zygomycosis of Cattle. *Veterinary Pathology*, **31**, 28-36.
- Kennedy KJ, Daveson K, Slavin MA, Van Hal SJ, Sorrell TC *et al.* (2016) Mucormycosis in Australia: contemporary epidemiology and outcomes. *Clinical Microbiology and Infection*, **22**, 775-781.
- Kwon-Chung KJ (2012) Taxonomy of fungi causing mucormycosis and entomophthoromycosis (zygomycosis) and nomenclature of the disease: molecular mycologic perspectives. *Clinical Infectious Diseases*, **54**, S8-S15.
- López-Sanromán LJ, Payá ML, Cutuli MT, González JL (2000) Cutaneous mucormycosis caused by *Absidia comrymbefa* in a horse. *Veterinary Dermatology*, **11**, 151-151.
- Mathur SC, Friedman HD, Kende AI, Davis RI, Graziano SL (1999) Cryptic *Mucor* infection leading to massive cerebral infarction at initiation of antileukemic chemotherapy. *Annals of Hematology*, **78**, 241-245.
- Mauldin EA, Peters-Kennedy J (2016) Integumentary system. In: *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*, Vol. 1, 6th Edit., MG Maxie, Ed., Elsevier, Saint Louis, pp. 646-660.
- Reynaldi FJ, Giacoboni G, Córdoba SB, Romero J, Reinoso EH *et al.* (2017) Mucormycosis due to *Saksenaia vasiformis* in a dog. *Medical Mycology Case Reports*, **16**, 4-7.
- Ribes JA, Vanover-Sams CL, Baker DJ (2000) Zygomycetes in human disease. *Clinical Microbiology Reviews*, **13**, 236-301.
- Richa S, Ramandeep G, Samir A, Avani D (2017) Rhinocerebral Mucormycosis: Report of a Rare Case. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, **27**, 85-90.
- Shirani D, Ghaffari MS, Khosravi AR, Vajhi AR, Khorami N (2008) An unusual case of nasal mucormycosis caused by *Rhizopus oryzae* in a German shepherd dog. *Iran. Journal of Veterinary Research*, **9**, 378-380.

- Souto EPF, Carvalho GS, Frade MTS, Olinda RG, Pessoa CRM *et al.* (2016) Aspergilose pulmonar associado a infarto agudo do miocárdio em cão. *Acta Scientiae Veterinariae*, **44**, 1-5.
- Spellberg B, Edwards JJr, Ibrahim A (2005) Novel perspectives on mucormycosis: pathophysiology, presentation, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, **18**, 556–569.
- Thirion-Delalande C, Guillot J, Jensen HE, Crespeau FL, Bernex F (2005) Disseminated acute concomitant aspergillosis and mucormycosis in a pony. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*, **52**, 121-124.
- Vasconcelos DY, Grahn BH (1995) Disseminated *Rhizopus* Infection with Ocular Involvement in a Calf. *Veterinary Pathology*, **32**, 78-81.
- Wingard J. 2006. Zygomycosis: epidemiology and treatment options. *Johns Hopkins Advanced Studies in Medicine*, **6**, S526-S530.

CAPÍTULO II

Candidíase sistêmica associada a cinomose em cães

Trabalho submetido à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia
(Qualis A2)

Candidíase sistêmica associada a cinomose em cães

[*Systemic candidiasis associated with distemper in dogs*]

R.C. Alves^{1*}, V. Dutra², D. Driemeier³, G.D. Kommers⁴, R.S. Carneiro¹, A.P. Souza¹, G.J.N. Galiza¹, A.F.M. Dantas¹

¹Universidade Federal de Campina Grande - Patos, PB, Brasil, ²Universidade Federal de Mato Grosso - Cuiabá, MT, Brasil, ³Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Porto Alegre, RS, Brasil, ⁴Universidade Federal de Santa Maria - Santa Maria, RS, Brasil

ABSTRACT

We report the epidemiological, clinical and pathological aspects of three cases of systemic candidiasis associated with distemper in dogs in Sertão da Paraíba, Northeast of Brazil. The affected dogs were between four months and five years. Of these, two were without defined breed dogs and one Poodle. The clinical manifestations were predominantly neurological, followed by nonspecific changes with evolution from five to thirty days. At necropsy there were multifocal areas with yellowish-white coalescents surrounded by reddish edges in the kidneys, heart, liver, submandibular lymph node and lung. In case 2, there were white clusters adhering to the epicardial surface, aortic artery, pericardial sac and spleen, in addition to right testicle infarction, hydroureter, pyelonephritis and hydronephrosis with mucosa covered by yellowish material. In case 3, there was an increase in the right carpal-metacarpal joint, that when cutting reddish and cloudy content flowed. In the brain, the lesions were multifocal, blackened and/or reddish and friable. Microscopically, the lesions consisted of areas of necrosis and hemorrhage, surrounded by neutrophils, mostly degenerate associated with vasculitis, congestion, thrombosis, infarction and fungi with various morphological patterns including yeast, pseudo-hyphae and hyphae. The three dogs were immunosuppressed due to the concomitant infection with the canine distemper virus. Cases 2 and 3 were diagnosed still with generalized dermatophytosis and lymphoma, respectively. The diagnosis of systemic candidiasis was made through the morphotinctorial characteristics of the agent and immunostaining by the polyclonal anti-*Candida albicans* antibody.

Keywords: Dog disease, opportunistic mycosis, immunosuppression, *Candida albicans*, dimorphism

*Corresponding author, E-mail: rodrigo_cruz90@live.com

RESUMO

Descrevem-se os aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos de três casos de candidíase sistêmica associada a cinomose em cães no Sertão da Paraíba, Nordeste do Brasil. Os cães acometidos tinham idade de quatro meses a cinco anos. Desses, dois eram cães sem raça definida e outro Poodle. As manifestações clínicas eram predominantemente neurológicas, seguidas de alterações inespecíficas com evolução de cinco a trinta dias. Na necropsia havia áreas multifocais a coalescente branco-amareladas circundadas por bordas avermelhadas nos rins, coração, fígado, linfonodo submandibular e pulmão. No caso 2, havia material brancocento aderido à superfície epicárdica, artéria aorta, saco pericárdico e baço. Além de infarto no testículo direito, hidroureter, pielonefrite e hidronefrose com mucosa com deposição de material amarelado. No caso 1, havia aumento da articulação carpo-metacárpica direita, que ao corte fluía conteúdo avermelhado e turvo. No encéfalo, observavam-se áreas multifocais, enegrecidas e/ou avermelhadas e friáveis. Microscopicamente, as lesões consistiam em áreas de necrose e hemorragia, circundadas por neutrófilos, em sua maioria degenerados associada a vasculite, congestão, trombose, infarto e fungos com vários padrões morfológicos que incluíam leveduras, pseudo-hifas e hifas. Os três cães estavam imunossuprimidos decorrente da infecção concomitante pelo vírus da cinomose canina. Os casos 2 e 3 apresentavam ainda dermatofitose generalizada e linfoma, respectivamente. O diagnóstico de candidíase sistêmica foi realizado através das características morfotintoriais do agente e imunomarcação pelo anticorpo policlonal anti-*Candida albicans*.

Palavras-chave: Doença de cão, micose oportunista, imunossupressão, *Candida albicans*, dimorfismo

INTRODUÇÃO

Candidíase é uma infecção fúngica oportunista causada por leveduras do gênero *Candida*, que residem normalmente como comensais nas mucosas do trato gastrointestinal, respiratório, urogenital, além da pele de inúmeras espécies de animais e humanos (Giuffrida, 2016; Uzal *et al.*, 2016), e ocasionalmente isoladas de fontes ambientais (Pressler, 2015). São conhecidas mais de 200 espécies e somente uma pequena parte é considerada patogênica, sendo *Candida albicans* a espécie mais comum, isolada especialmente em infecções disseminadas (Giuffrida, 2016), embora outras tenham sido identificadas (Pressler, 2015).

As infecções por *Candida* spp. geralmente são restritas as superfícies das membranas mucosas e pele em indivíduos sadios (Verduyn Lunel *et al.*, 1999). No entanto, com o sistema

imune comprometido, as leveduras tornam-se patogênicas e podem resultar em infecções invasivas com envolvimento sistêmico (Clercx *et al.*, 1996). Essas infecções sistêmicas são raras em cães e a maioria dos relatos tem sido associado a imunossupressão, e ocasionalmente descritas em animais sadios como patógenos primários (Heseltine *et al.*, 2003; Brown *et al.*, 2005; Kuwamura *et al.*, 2006; Skoric *et al.*, 2011; Willems *et al.*, 2017; Souto *et al.*, 2018). Desta forma, objetivou-se descrever três casos de candidíase sistêmica associada a cinomose diagnosticados em cães, destacando os principais aspectos epidemiológicos, clínicos e patológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Os cães foram necropsiados e amostras teciduais de todos os órgãos foram fixados em formalina 10% tamponada, processados rotineiramente e corados com hematoxilina e eosina (HE). Para demonstrar as características morfológicas particulares do agente, foram utilizados métodos histoquímicos como a impregnação pela metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS) e ácido periódico de Schiff (PAS).

A técnica de imuno-histoquímica (IHQ) foi realizada em cortes de tecidos em lâminas silanizadas, que após a desparafinização foram re-hidratados, seguido do bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio (água oxigenada comercial a 3%) por 2x de 10 minutos. A recuperação antigênica foi realizada em forno micro-ondas, em potência máxima, com TRIS-EDTA (pH 9,0), durante 10 minutos. O bloqueio das reações inespecíficas foi realizado com caseína (leite em pó desnatado em PBST) por 30 min. Como anticorpo primário foi utilizado um anticorpo policlonal feito em coelho anti-*Candida albicans* (Abcam, ab53891), na diluição 1:1.000 em PBST (tampão salina fosfato com Tween 20-Sigma). As seções foram incubadas em estufa a 37°C durante 60 min. Como controle negativo, no lugar do anticorpo primário, foi utilizado PBST. Como Ac secundário foi utilizado o sistema de detecção pelo polímero HiDef-HRP (Cell Marque; Millipore Sigma), conforme recomendação do fabricante. O substrato revelador foi 3,3' diaminobenzidina (DAB; Kit EasyLink One [EasyPath]). As seções foram contra-coradas com hematoxilina de Harris e montadas com meio de montagem sintético (Entellan).

RESULTADOS

Foram acometidos três cães, sendo dois animais domiciliados e/ou peridomiciliados (casos 2 e 3) e um cão de rua (caso 1). Um animal não era vacinado (caso 1) e dois tinham

vacinação incompleta e/ou atrasada (casos 2 e 3). Os dados epidemiológicos, sinais clínicos e evolução desses casos encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Dados epidemiológicos, sinais clínicos e evolução de casos de candidíase em cães diagnosticados no LPA-UFCG.

Caso	Raça/Sexo/Idade	Sinais clínicos	Evolução
1	SRD/ Macho/ 4 meses	Apatia, decúbito lateral e secreção serosa bilateral no conduto auditivo	14 dias
2	SRD/ Macho/ 5 anos	Anorexia, decúbito lateral, diarreia sanguinolenta, vocalização, mioclonias, bradicardia, bradipneia e pústulas	30 dias
3	Poodle/ Macho/ 5 anos	Anemia grave, anorexia, ataxia, desvio lateral da cabeça, mucosas pálidas, secreção ocular e nasal mucopulverenta, pústulas, seborreia e dispneia	5 dias

SRD = Sem raça definida.

Macroscopicamente, observavam-se lesões disseminadas em órgãos das cavidades torácica, abdominal e sistema nervoso central (SNC). Em todos os casos havia envolvimento dos rins (Fig.1A), coração e encéfalo. Adicionalmente, no caso 1 havia lesões no linfonodo submandibular, fígado e articulação carpo-metacárpica direita (Fig.1B), e no caso 2 havia ainda lesões no saco pericárdico, artéria aorta, testículo direito (Fig.1C), pulmão e baço. Os padrões de lesões macroscópicas observadas nos órgãos afetados em casos de candidíase encontram-se na Tabela 2.

Adicionalmente, no caso 1 observava-se secreção amarelada e fétida em ambos os pavilhões auriculares. Na pele das regiões ventral do pescoço, tronco e membros pélvicos observavam-se áreas multifocais a coalescentes eritematosas, pustulares com bordas irregulares e tamanhos variáveis, úmidas e fétidas. No encéfalo, as lesões consistiam em assimetria afetando os núcleos da base estendendo-se até o tálamo direito (Fig.1D).

No caso 2, os grumos eram vistos predominantemente na região próxima ao ápice do coração (Fig.1E). No rim esquerdo observava-se aumento de volume com consistência cística, que ao corte, fluía líquido amarelado e translúcido associado a dilatação acentuada da pelve e cálices (hidronefrose) com deposição de material irregular amarelado e friável (pielonefrite) (Fig.1F). O ureter esquerdo apresentava-se com moderada dilatação (hidroureter) e mucosa recoberta por material semelhante. No encéfalo, as lesões afetavam os córtices frontal, parietal,

temporal e occipital, núcleos da base, ventrículos laterais, terceiro ventrículo, tálamo e estendiam-se ao quarto ventrículo e cerebelo.

No caso 3, as lesões cardíacas eram visualizadas nos átrios e ventrículos direito e esquerdo medindo em média 0,5 cm de diâmetro. No encéfalo, havia área focalmente extensa avermelhada no hemisfério cerebelar esquerdo. Ao corte, após fixação, as lesões eram observadas no córtex occipital, hemisférico cerebelar, colículos caudais e craniais esquerdos.

Tabela 2 – Padrões de lesões macroscópicas observadas de acordo com os órgãos afetados nos casos de candidíase em cães diagnosticados no LPA-UFCG.

Caso 1	Órgãos		Lesões macroscópicas
	Caso 2*	Caso 3**	
Linfonodo submandibular, coração, fígado e rim	Pulmão, rins e coração	Rim e coração	Superfície externa com áreas nodulares ou irregulares amarelo-brancacentas, elevadas e friáveis, delimitadas por halo avermelhado, que aprofundavam-se ao corte (infartos agudos)
-	Epicárdio, artéria aorta, saco pericárdico (porção visceral) e baço	-	Deposição de material grumoso irregular e brancacento
Encéfalo	Encéfalo	Encéfalo	Superfície de corte com áreas enegrecidas e/ou avermelhadas e friáveis ^a
-	Testículo direito	-	Superfície de corte avermelhada e friável (infarto agudo difuso)
-	Rim esquerdo	-	Hidronefrose e pielonefrite
	Ureter esquerdo		Hidroureter
Articulação carpo-metacárpica direita	-	-	Aumento de volume com conteúdo avermelhado e turvo.

^a Tecido fixado; *Animal com dematofitose; **Animal com linfoma.

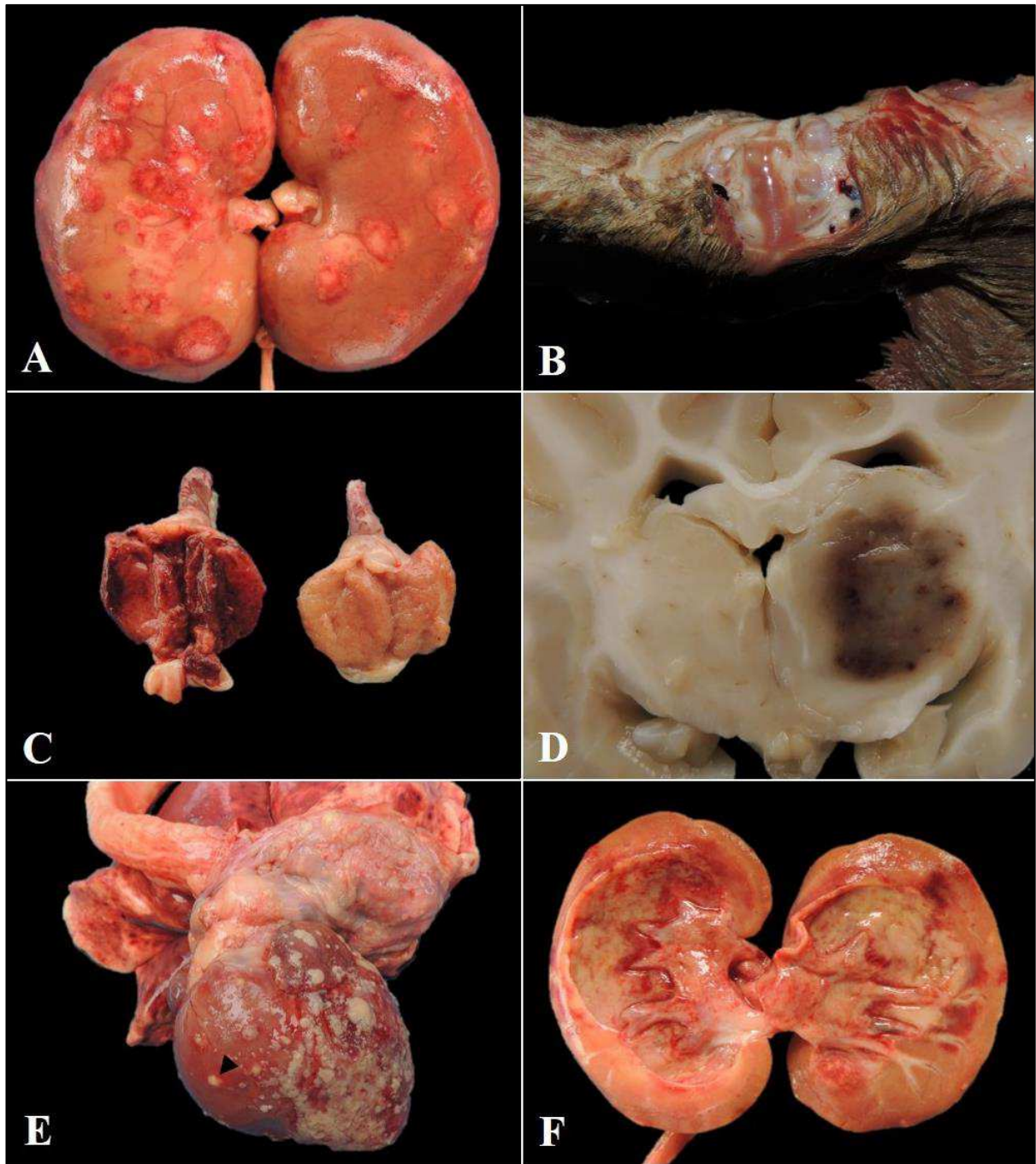


Figura 1. Candidíase sistêmica em cães. A) Rim. Observam-se áreas multifocais a coalescente, arredondadas, amareladas delimitadas por bordas avermelhadas, friáveis e elevadas. B) Articulação carpo-metacárpica direita. Observa-se conteúdo avermelhado e levemente turvo. C) Testículo direito. Superfície de corte difusamente avermelhada. D) Encéfalo. Superfície de corte com assimetria do tálamo direito, com área focalmente extensa enegrecida e pouco delimitada. E) Coração. Superfície epicárdica com deposição de material brancacento e irregular predominantemente na região próxima ao ápice entremeado por ocasionais nódulos firmes e amarelo-brancacentos (cabeça de seta). F) Rim. Superfície de corte com dilatação acentuada da pelve e cálices com deposição de material amarelado.

Histologicamente, as lesões consistiam em áreas multifocais a coalescentes de necrose e hemorragia, circundadas por neutrófilos, em sua maioria degenerados, raros linfócitos e plasmócitos associada a vasculite, congestão, trombose (Fig.2A), infarto e miríades de fungos dimórficos.

Na pele do caso 1, havia áreas multifocais a coalescentes de discreta acantose e acantólise, além de pústulas epidérmicas e áreas ulceradas associadas a acentuado infiltrado inflamatório neutrofílico e ocasionais miríades de agregados bacterianos na derme superficial. No extrato córneo, observava-se discreta hiperqueratose ortoqueratótica e acentuadas crostas serocelulares associadas a agregados bacterianos cocoides basofílicos. As lesões estendiam-se a derme profunda e panículo. Na medula óssea, havia focos aleatórios de moderada necrose circundadas por infiltrado neutrofílico degenerado e raras células gigantes multinucleadas associada a trombos e fungos. No testículo direito do caso 2, havia necrose de coagulação difusa dos túbulos seminíferos circundadas por acentuado infiltrado neutrofílico associada a hemorragia, trombos (Fig.2B) e fungos. Ocasionalmente, os fungos eram vistos na túnica albugínea. Observavam-se também áreas multifocais de moderada fibrose associada a neovascularização e infiltrado de macrófagos epitelioides e macrófagos espumosos associado a fungos no miocárdio, túnica adventícia da artéria aorta e pelve renal. As estruturas fúngicas eram observadas como focos discretos exclusivamente na superfície capsular e trabéculas esplênicas do baço e lúmen do ureter esquerdo.

Nos órgãos afetados as estruturas fúngicas eram visualizadas especialmente em aglomerados nas áreas de necrose, folículos pilosos, trombos, meninges, parede e luz dos vasos sanguíneos, glomérulos (Fig.2C) e ocasionalmente livres no parênquima. Em secções coradas pela HE os fungos apresentavam predominantemente paredes discretamente basofílicas (Fig.2D), e algumas vezes essas estruturas eram vistas como imagens negativas. Pelo GMS (Fig.2E) e PAS os fungos foram intensamente impregnados em preto e fortemente corados em rosa, respectivamente. Com o uso dessas colorações foi possível evidenciar padrões morfológicos distintos dos fungos incluindo leveduras, pseudo-hifas e hifas. Morfológicamente, as leveduras eram arredondadas pequenas com diâmetro variando de 3-8 μm , por vezes, em brotamento. As pseudo-hifas eram caracterizadas por cadeias de leveduras alongadas, com paredes mais largas no centro e estreitas em suas extremidades com constrições segmentares proeminentes, medindo aproximadamente 6-10 μm e as hifas possuíam paredes paralelas, raramente septadas com ramificações angulares e tubo germinativo medindo de 4-15 μm de diâmetro.

As estruturas fúngicas foram fortemente positivas para o anticorpo policlonal anti-*Candida albicans* na imuno-histoquímica (Fig.2F). Todos os cães estavam concomitantemente infectados pelo vírus da cinomose. A infecção foi confirmada pelo exame histopatológico, através da HE. As lesões histológicas compatíveis com cinomose consistiam em desmielinização e malácia, caracterizada por rarefação do neurópilo associado a numerosas células *Gitter*, gemistócitos, mangitos perivasculares linfoplasmocitarios e corpúsculos de inclusões eosinofílicos intracitoplasmáticos e/ou intranucleares em astrócitos, neurônios, neurônios de Purkinje e células ependimárias (casos 1 e 2). Corpúsculos de inclusão também foram observados em órgãos extraneurais incluindo as células parietais e principais da mucosa gástrica e células epiteliais da mucosa da bexiga (casos 1 e 3). Além da infecção fúngica e viral, um cão (caso 3) foi diagnosticado ainda com linfoma, afetando a glândula adrenal direita e o fígado, e outro (caso 2) foi diagnosticado com dermatofitose generalizada.

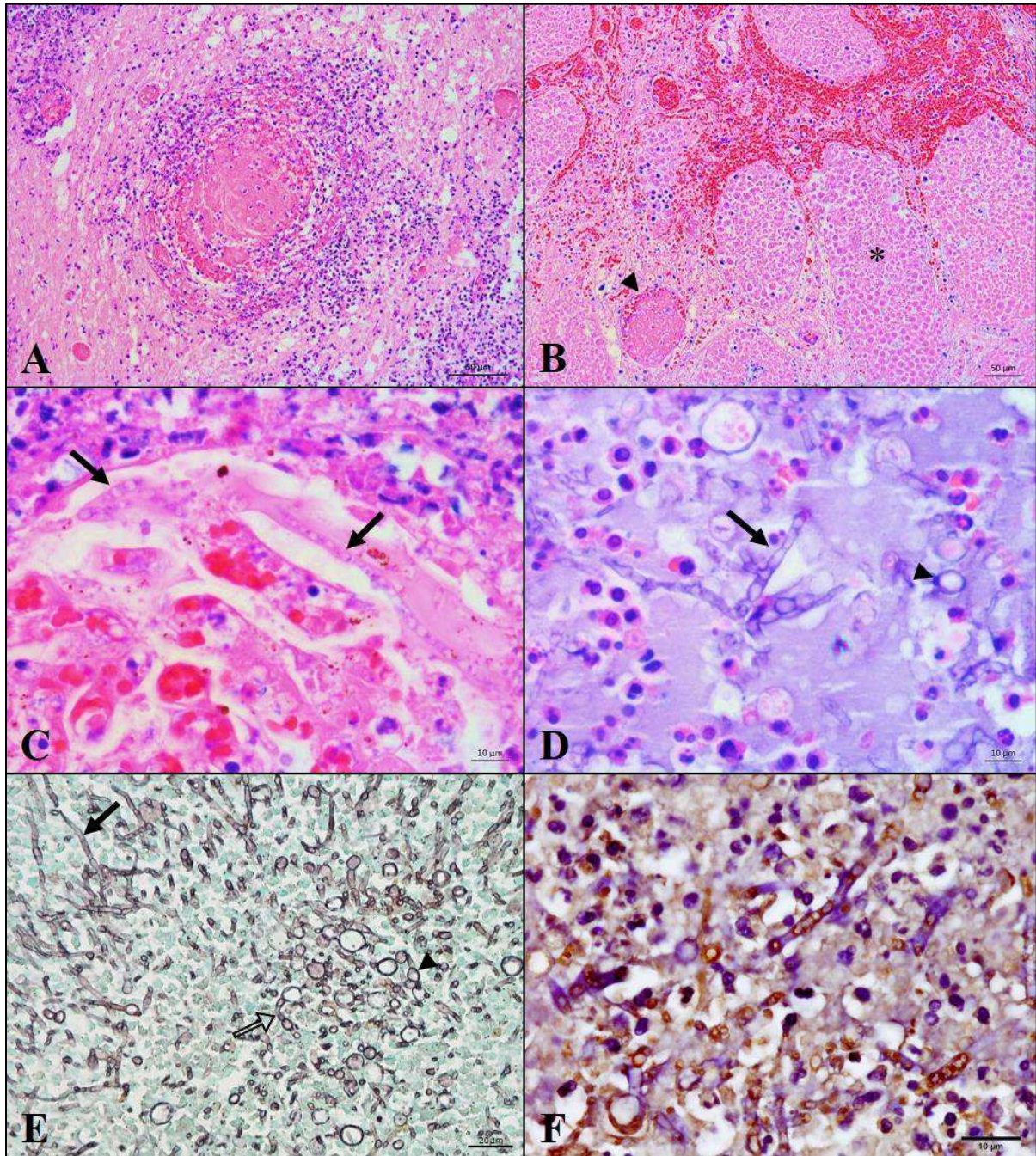


Figura 2. Candidíase sistêmica em cães. A) Encéfalo. Múltiplos vasos sanguíneos com parede espessada por detritos celulares necróticos e infiltrado neutrofílico associados a trombos, além de vacuolização do neuropilo adjacente. HE. Barra = 50 μ m. B) Testículo. Necrose de coagulação difusa dos túbulos seminíferos (asterisco) associada a hemorragia e trombo (cabeça de seta). HE. Barra = 50 μ m. C) Rim. Numerosas hifas no tufo glomerular (seta). HE. Barra = 20 μ m. D) Fígado. Estruturas fúngicas filamentosas (seta) e leveduriformes (cabeça de seta) com parede discretamente basofílica circundadas por discreto infiltrado neutrofílico. HE. Barra = 10 μ m. E) Fígado. Múltiplos fungos impregnados em preto correspondendo a leveduras (cabeça de seta) e pseudo-hifas (seta vazada) localizadas ao centro e hifas (seta) vistas perifericamente. GMS. Barra = 20 μ m. F) Fígado. Hifas fortemente positivas para anticorpo policlonal anti-*Candida albicans*, IHQ, DAB. Barra = 10 μ m.

DISCUSSÃO

O diagnóstico de candidíase sistêmica foi realizado com base nas características morfológicas do agente e confirmada pela imuno-histoquímica. As leveduras do gênero *Candida* residem como comensais, mas quando há um desequilíbrio da microbiota normal ou o sistema imune do hospedeiro encontra-se comprometido, as leveduras podem converter-se em microrganismos patogênicos oportunistas (Barbedo e Sgarbi, 2010). A espécie *C. albicans* é a principal causa de doenças em seres humanos e pequenos animais (Pressler, 2015), provocando infecções superficiais e especialmente invasivas com disseminação hematogêna (Giuffrida, 2016).

Em cães, os relatos de candidíase sistêmica são raros e tem sido associada a doenças subjacentes e/ou fatores imunossupressores (Giuffrida, 2016), incluindo a infecção por *parvovírus* (Rodriguez *et al.*, 1998), hiperadrenocorticismo, diabetes mellitus, tratamento prévio com corticosteroides e antibióticos (Heseltine *et al.*, 2003; Tunca *et al.*, 2006), mastocitoma mesentérico metastático (Matsuda *et al.*, 2009), peritonite secundária a enterotomia (Rogers *et al.*, 2009) e neutropenia induzida por ciclofosfamida (Khosravi *et al.*, 2009). Recentemente foi descrito um caso associado a infecção pelo vírus da cinomose canina (Souto *et al.*, 2018), como visto nos três casos deste relatório. Esse vírus provoca inibição crônica e profunda com comprometimento das funções imunes celulares e humorais, perda dos linfócitos e leucopenia, que culminam em imunossupressão (Pressler, 2015), tornando o animal suscetível à infecções oportunistas (Sykes, 2014). A imunossupressão pode ter favorecido também a dermatofitose generalizada, observada no caso 2. O linfoma diagnosticado no caso 3 pode ter colaborado para a infecção, uma vez que a neoplasia tem a capacidade de suprimir o sistema imunológico do hospedeiro, pela produção de citocinas por células T reguladoras (Rabinovich *et al.*, 2007; Curiel, 2008). Em contrapartida, alguns casos foram descritos com ausência dos sinais característicos da imunossupressão (Skoric *et al.*, 2011; Willems *et al.*, 2017).

Em todos os órgãos avaliados, foram observadas lesões vasculares extensas associada a fungos na luz e parede vascular, que sugerem a disseminação por via hematogêna causando infartos agudos em vários órgãos (Fidel *et al.*, 1999). No caso 1, a presença de leveduras no interior dos folículos pilosos sugerem que a infecção primária tenha ocorrido por meio da pele, favorecidas por lesões prévias com perda da integridade (Pressler, 2015) e invasão tecidual com disseminação para vários órgãos incluindo o linfonodo submandibular, rins, coração, encéfalo, fígado, medula óssea e articulação carpo-metacárpica direita. As dermatites são menos comuns

em comparação com infecções das mucosas e tem sido associada a dermatopatias crônicas incluindo o pênfigo foliáceo, acrodermatite e reações de hipersensibilidade (Giuffrida, 2016). A artrite por *Candida* pode ocorrer como uma manifestação tardia da candidíase disseminada (Hansen e Andersen, 1995; Kim *et al.*, 2011; Bariteau *et al.*, 2014). No caso 2, as lesões extensas visualizadas nos rins e ureter esquerdo sugerem que a porta de entrada ocorreu pelo trato urinário através de infecção ascendente com envolvimento primariamente renal e disseminação para vários órgãos (Sykes, 2014). Em cães, cerca de 1 a 2% das infecções urinárias são causadas por *Candida* sp. (Giuffrida, 2016), e associada a cateteres urinários de demora, estomas permanentes das vias urinárias e neoplasia vesical (Pressler, 2015). Nesse caso, não foi mencionado qualquer tipo de procedimento clínico e tampouco foram vistas lesões na bexiga durante a necropsia, mais é provável que tenha ocorrido obstrução prévia do ureter esquerdo pela presença de cálculos ocasionando hidroureter, pielonefrite e hidronefrose, favorecendo a ao menor fluxo urinário e consequentemente proliferação do agente (Kauffman, 2005; Giuffrida, 2016). O envolvimento testicular observado neste caso é uma condição muito rara, relatada apenas em humanos (Jenkin *et al.*, 1997). No caso 3, não foi possível determinar a porta de entrada primária da infecção, mas é provável que o fungo tenha momentaneamente conseguido ultrapassar as barreiras da mucosa ou da pele e posteriormente invadido vasos sanguíneos com disseminação para o coração, rins e encéfalo (Rodriguez *et al.*, 1998).

Os sinais clínicos da candidíase sistêmica são extremamente variáveis e refletem os órgãos acometidos (Pressler, 2015). Essas infecções dificilmente são incluídas entre os diagnósticos diferenciais, tornando o diagnóstico clínico difícil. No presente relato, os cães apresentaram sinais clínicos neurológicos compatíveis com cinomose. No entanto, as demais alterações clínicas foram inespecíficas e insuficientes para correlacionar com uma infecção secundária e nenhum dos casos diagnosticados no exame necroscópico sugeriam candidíase sistêmica durante a exploração clínica.

Os métodos histoquímicos utilizados nesse estudo contribuíram efetivamente para o diagnóstico prévio de candidíase, tornando evidente as características morfológicas variáveis dos fungos (Galiza *et al.*, 2014). A característica dimórfica das espécies de *Candida* está diretamente relacionada com a sua patogenicidade (Brown e Gow, 1999), já que a formação de hifas promove a invasão tecidual e também evita que as leveduras sejam fagocitadas por macrófagos e neutrófilos (Birse *et al.*, 1993). Nesses casos, por se tratarem de infecções invasivas com envolvimento sistêmico, as formas morfológicas como pseudo-hifas e hifas foram predominantes. Essas formas são encontradas também em superfícies de cateteres durante a formação de biofilme (Guarner e Brandt, 2011; Pressler, 2015). Os fungos também

produzem vários fatores de virulência incluindo enzimas proteolíticas e toxinas que exercem função importante na adesão, colonização, invasão e disseminação em infecções sistêmicas (Brown *et al.*, 2005; Giuffrida, 2016).

Em razão da capacidade das leveduras do gênero *Candida* sp. em produzir pseudo-hifas e hifas em infecções invasivas, faz-se necessário incluir no diagnóstico diferencial outras micoses e oomicoses capazes de apresentar características histomorfologicas semelhantes (Guarner e Brandt, 2011). Os fungos pertencentes a classe Zygomycetes exibem hifas com largura variável, raramente septadas, paredes tortuosas, dobradas e ramificações irregulares (Galiza *et al.*, 2014). *Aspergillus* spp. apresentam hifas com paredes paralelas, septadas, por vezes ramificações dicotômicas associadas ou não a conidióforos (Souto *et al.*, 2016). As oomicoses causadas por *Pythium insidiosum* e *Lagenidium* spp. apresentam hifas com paredes paralelas, ramificações irregulares e, por vezes, formando ângulos retos com raras septações e pelo PAS as paredes das hifas são fracamente coradas (Grooters *et al.*, 2003; Frade *et al.*, 2017).

CONCLUSÃO

Conclui-se que a candidíase sistêmica em cães está associada a fatores que deprimem o sistema imunológico, especialmente quando estão concomitantemente infectados pelo vírus da cinomose canina, afetando animais jovens e adultos com sinais clínicos predominantemente neurológicos e inespecíficos decorrente de lesões necrossupurativas e vasculares em diversos órgãos. Chama a atenção o envolvimento articular pouco descrito em cães e lesões testiculares descritas apenas em humanos.

REFERÊNCIAS

- BARBEDO, LS; SGARBI, DBG. Candidíase. *J. bras. Doenças. Sex. Transm.*, v.22, p.22-38, 2010.
- BARITEAU, JT; WARYASZ, GR; McDONNELL, M. *et al.* Fungal osteomyelitis and septic arthritis. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.*, v.22, p.390–401, 2014.
- BIRSE, C.E; IRWIN, MY; FONZI, WA; SYPHERD, PS. Cloning and characterization of ECE1, a gene expressed in association with cell elongation of the dimorphic pathogen *Candida albicans*. *Infect. Immun.*, v.61, p.3648–3655, 1993.
- BROWN, AJB; GOW, NAR. Regulatory networks controlling *Candida albicans* morphogenesis. *Trends Microbiol.*, v.7, p.333-338, 1999.
- BROWN, MR; THOMPSON, CA; MOHAMED, FM. Systemic candidiasis in an apparently immunocompetent dog. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.17, p.272-276, 2005.

- CLERCX, C; MCENTEE, K; SNAPS, F. *et al.* Bronchopulmonary and disseminated granulomatous disease associated with *Aspergillus fumigatus* and *Candida* species infection in a golden retriever. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v.32, p.139–145, 1996.
- CURIEL, TJ. Regulatory T cells and treatment of cancer. *Curr. Opin. Immunol.*, v.20, p.241-246, 2008.
- FIDEL, PLJR; VAZQUEZ, JA; SOBEL, JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin. Microbiol. Rev.*, v.12, p.80-96, 1999.
- FRADE, MTS; DINIZ, PVN; OLINDA, RG. *et al.* Pythiosis in dogs in the semiarid region of Northeast Brazil. *Pesq. Vet. Bras.*, v.37, p.485-490, 2017.
- GIUFFRIDA, R. Enfermidades pelo gênero *Candida*. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C. (Eds). *Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia*. 1ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. p.907-910.
- GROOTERS, AM; HODGIN, EC; BAUER, RW. *et al.* Clinicopathologic Findings Associated with *Lagenidium* sp. Infection in 6 Dogs: Initial Description of an Emerging Oomycosis. *J. Vet. Intern. Med.*, v.17, p.637–646, 2003.
- GUARNER, J; BRANDT, ME. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st Century. *Clin. Microbiol. Rev.*, v.24, p.247-280, 2011.
- HANSEN, BL; ANDERSEN, K. Fungal arthritis. A review. *Scand. J. Rheumatol.*, v.24, p.248-50, 1995.
- HESELTINE, JC; PANCIERA, DL; SAUNDERS, GK. Systemic candidiasis in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.223, p.821-824, 2003.
- JENKIN, GA; CHOO, M; HOSKING, P; JOHNSON, PDR. Candidal Epididymo-Orchitis: Case Report and Review. *Clin. Infect. Dis.*, v.26, p.942-945, 1998.
- KAUFFMAN, CA. Candiduria. *Clin. Infect. Dis.*, v.41, p.371–376. 2005.
- KHOSRAVI, AR; MARDJANMEHR, H; SHOKRI, H. *et al.* Mycological and histopathological findings of experimental disseminated candidiasis in dogs. *Iran J. Vet. Res.*, v.10, p.228-234, 2009.
- KIM, SY; LIM, JS; KIM, DH. *et al.* *Candida tropicalis* arthritis of the elbow in a patient with Ewing's sarcoma that successfully responded to itraconazole. *Korean. J. Pediatr.*, v.54, p.385-388, 2011.
- LUNA, M. 1997. Candidiasis. In: CONNOR, DH; CHANDLER, FW; SCHWARTZ, DA. *et al.* (Eds). *Pathology of infectious diseases*. 1.ed. v.2. Hong Kong: Stamford, Appleton & Lange, 1997. p.953-964.

- MATSUDA, K; SAKAGUCHI, K; KOBAYASHI, S. *et al.* Systemic candidiasis and mesenteric mast cell tumor with multiple metastases in a dog. *J. Vet. Med. Sci.*, v.71, p.229-232, 2009.
- PRESSLER, BM. Candidíase e rodotorulose. Em: GREENE, C.E. (Ed). *Doenças Infecciosas em Cães e Gatos*. 4.d. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p.1466-1477.
- RABINOVICH, GA; GABRILOVICH, D; SOTOMAYOR, EM. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells. *Annu. Rev. Immunol.*, v.25, p.267-296, 2007.
- RODRIGUEZ, F; FERNANDEZ, A; DE LOS MONTEROS, AE. *et al.* Acute disseminated candidiasis in a puppy associated with parvoviral infection. *Vet. Rec.*, v.142, p.434-436, 1998.
- ROGERS, CL; GIBSON, C; MITCHELL, SL. *et al.* Disseminated candidiasis secondary to fungal and bacterial peritonitis in a young dog. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.*, v.19, p.193-198, 2009.
- SKORIC, M; FICTUM, P; SLANA, I. *et al.* A case of systemic mycosis in a Hovawart dog due to *Candida albicans*. *Vet. Med.*, v.56, p.260-264, 2011.
- SOUTO, EPF; FRADE, MTS, BORGES, IL. *et al.* Cerebral *Candida albicans* Infection in Two dogs. *Act. Sci. Vet.*, v.46, p.1-6, 2018.
- SOUTO, EPF; CARVALHO, GS; FRADE, MTS. *et al.* Aspergilose pulmonar associado a infarto agudo do miocárdio em cão. *Act. Sci. Vet.*, v.44, p.1-5, 2016.
- SYKES, JE. *Canine and feline infectious diseases*. Saint. Louis: Elsevier, 2014. p.915.
- TUNCA, R; GUVENC, T; HAZIROGLU, R. *et al.* Pathological and immunohistochemical investigation of naturally occurring systemic *Candida albicans* infection in dogs. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, v.30, p.545-551, 2006.
- UZAL, FA; PLATTNER, BL; HOSTETTER, JM. Alimentary system. In: MAXIE, M.G. (Eds). *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 6.ed. v.2. Saint Louis: Elsevier, 2016. p.1-257.
- VERDUYN LUNEL, FM; MEIS, J.F; VOSS, A. Nosocomial fungal infections: candidemia *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, v.34, p.213-220, 1999.
- WILLEMS, N; HOUWERS, DJ; SCHLOTTER, YM. Disseminated Candidiasis in a Young, Previously Healthy, Dog and Review of Literature. *Mycopathologia.*, v.182, p.591-596, 2017.

CONCLUSÃO GERAL

Com a realização desses trabalhos foi possível constatar que a mucormicose e a candidíase são doenças esporadicamente diagnosticadas na rotina do Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Universitário Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa da UFCG. Embora pouco frequentes, essas micoses constituem importantes causas de morte em cães.

O fator determinante para a infecção e morte dos animais foi a imunossupressão decorrente de uma doença de base ou tratamento prévio com drogas imunossupressoras, favorecendo a proliferação e disseminação dos agentes nos tecidos.

Devido à ampla variedade de lesões, particularmente em infecções fúngicas disseminadas com o envolvimento de vários órgãos é fundamental considerá-las no diagnóstico diferencial de outras doenças, sejam infecciosas ou neoplásicas que cursam com sinais clínicos e alterações anatomopatológicas semelhantes.