

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE CAMPINAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA VIDA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA

VICTOR ALCINO SALTORI

**DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA ESPOROTRICOSE FELINA**

CAMPINAS  
2020

Victor Alcino Saltori

Diagnóstico laboratorial da esporotricose felina

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária, do Centro de Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica de Campinas, como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Danielle Cristinne Baccarelli

CAMPINAS  
2020

Ficha catalográfica elaborada por Fabiana A Bracchi CRB 8/10221  
Sistema de Bibliotecas e Informação - SBI - PUC-Campinas

Saltori, Victor Alcino

Diagnóstico laboratorial de esporotricose felina / Victor Alcino Saltori. - Campinas: PUCCampinas, 2020.

34 f.: il.

Orientador: Danielle Cristinne Baccarelli.

TCC (Bacharelado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Centro de Ciências da Vida, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Campinas, 2020.

1. Zoonose . 2. Fungo . 3. Esporotricose. I. Baccarelli, Danielle Cristinne. II. Pontifícia Universidade Católica de Campinas. Centro de Ciências da Vida. Faculdade de Medicina Veterinária. III. Título.

VICTOR ALCINO SALTORI

Diagnóstico laboratorial da esporotricose felina

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária, do Centro de Ciências da Vida da Pontifícia Universidade Católica de Campinas, como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel em Medicina Veterinária.

Campinas - SP,

BANCA EXAMINADORA

Orientador(a): \_\_\_\_\_

Prof. Danielle Cristinne Baccarelli  
Faculdade de medicina veterinária  
PUC-Campinas

\_\_\_\_\_ Prof.

Diana Costa Nascimento  
Faculdade de medicina veterinária  
PUC-Campinas

\_\_\_\_\_

Prof. Douglas Segalla Caragelasco  
Faculdade de medicina veterinária  
PUC-Campinas

**DEDICATÓRIA**

Aos meus pais Mercedes e Jardel por todo apoio e suporte que sempre me deram  
nas minhas escolhas e na minha vida.

A todos os meus professores da graduação, que foram de fundamental importância  
na construção da minha vida profissional.

A todos os amigos que sempre estiveram presentes direta ou indiretamente em  
todos os momentos de minha formação.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha mãe Mercedes Saltori por sempre estar me apoiando, dando forças e ajudando na medida do possível durante todos esses anos.

À professora Danielle Cristinne Baccarelli pela disponibilidade e disposição em ajudar da melhor maneira possível orientando este trabalho.

À professora Diana Costa Nascimento por ter me ensinado a amar a microbiologia.

À Deus por mais esta realização.

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino”. (Leonardo da Vinci)

## **RESUMO**

A esporotricose é uma micose granulomatosa de animais e humanos causada pelo fungo dimórfico *Sporothrix spp.*, que afeta predominantemente o tecido subcutâneo e é caracterizada pelo aparecimento de nódulos palpáveis na pele que podem ou não evoluir para úlceras que não cicatrizam. Este quadro clínico característico é causado

predominantemente por quatro espécies do gênero *Sporothrix*: *Sporothrix schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* e *S. luriei*. No Brasil, *Sporothrix brasiliensis* é a espécie mais predominantemente encontrada e a responsável pela endemia no estado do Rio de Janeiro. Podem ser utilizados diversos métodos laboratoriais para o diagnóstico da esporotricose como cultura fúngica onde se isola o *Sporothrix spp.* e o identifica por meio de suas características como colônia. Com a utilização da histopatologia é possível a identificação das estruturas leveduriformes compatíveis com *Sporothrix spp.* no tecido infectado. A citologia em lesões dermatológicas tem se mostrado confiável como método de triagem, os diagnósticos sorológicos por aglutinação em partículas de látex é um dos métodos mais específicos e sensíveis para humanos, já para a veterinária métodos como ensaio imunoenzimático (ELISA) e reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido aprimorada para se tornar os métodos mais específicos e sensíveis para identificação da esporotricose em cães e gatos. O objetivo deste trabalho foi destacar as diversas possibilidades de exames laboratoriais para o diagnóstico da esporotricose como a cultura fúngica para identificação, até mesmo um diagnóstico molecular como o teste da reação em cadeia da polimerase (PCR).

Palavras-chave: medicina veterinária, zoonose, fungo, esporotricose

### **ABSTRACT**

Sporotrichosis is a granulomatous mycosis of animals and humans caused by the dimorphic fungus *Sporothrix spp.*, which predominantly affects subcutaneous tissue and is characterized by the appearance of palpable nodules on the skin that may or may not evolve to ulcers that do not heal. This characteristic clinical picture is caused predominantly by four species of the genus *Sporothrix*: *Sporothrix schenckii*, *S. brasiliensis*, *S. globosa* and *S. luriei*. In Brazil, *Sporothrix brasiliensis* is the most predominantly found species and the one responsible for the endemic disease in the state of Rio de Janeiro, several laboratory methods can be used for the diagnosis of sporotrichosis as fungiculture where *Sporothrix spp.* is isolated and identifies it through its characteristics as colonia, with the use of histopathology it is possible to identify leveduriform structures compatible with *Sporothrix spp.* in infected tissue, the examination of cytopathology in dermatological lesions has been shown to be reliable as a method of screening, serological diagnosis by latex particulate agglutination is one of the



most specific and sensitive methods for humans, as well as for the methodological veterinarian such as immunoenzymatic assay (ELISA) and polymerase chain reaction (PCR) has been improved to touch the most specific and sensitive methods for the identification of sporotrichosis in dogs and cats. The objective of this work was to highlight the various possibilities of laboratory tests for the diagnosis of sporotrichosis as fungic culture for identification, even a molecular diagnosis such as polymerase chain reaction (PCR) test.

Keyword: veterinary medicine, zoonosis, fungus, sporotrichosis

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Evolução espaço-temporal dos casos de esporotricose felina no Brasil. Nas últimas duas décadas (1998-2016), o Brasil experimentou um surto de longa duração de esporotricose transmitida por gatos no Rio de Janeiro, com 4.669 casos relatados. Esporotricose transmitida por gato devido a *S. brasiliensis* frequentemente aparece na forma de surtos ou epidemias em um curto período. Notavelmente, antes da década de 1990, o Rio de Janeiro relatava um baixo número de casos, quase sempre não relacionados aos tipos de transmissão felina. .... 15
- Figura 2 - Três tipos distintos de melanina produzidos por *Sporothrix spp.* A) melanina DHN evidenciando o contorno de um conídio; B) eumelanina produzida por leveduras na presença de LDOPA e C) piomelanina produzida por leveduras em meio adicionado com Ltirosina à direita; o frasco à esquerda continha leveduras mortas e foi usado como controle. .... 17

Figura 3 - Placa ulcerada, circular e bem delimitada na face dorso-lateral da região metacarpiana, na esporotricose felina ..... 18

Figura 4 - Placas ulceradas, bem circunscritas, eritematosas, circulares a ovaladas e com presença de exsudato, localizadas na borda lateral da orelha, na base medial da orelha e na lateral da face, na esporotricose felina. .... 18

Figura 5 - Coleta de material para o diagnóstico de esporotricose. A: importância do EPI durante o procedimento. B: limpeza da ferida. C: *swab* da ferida. D: *imprint* para citopatologia. .... 20

Figura 6 - Coleta de material para análise citológica (A) coleta de amostra com *Swab* (B) Utilizando a técnica de *imprint* ..... 21

Figura 7 - Citopatologia de lesão de gato (1000X) por *imprint*: Formas leveduriformes de *Sporothrix spp.* livres ou fagocitadas no citoplasma de macrófagos, envoltas por halo claro (setas vermelhas). Coloração por panótico. .... 22

Figura 8 - Cultura fúngica de *Sporothrix schenckii*, em ágar *Sabouraud*, com aspecto micelial, de centro enrugado, aderente ao meio e de cor marrom-escuro ..... 24

#### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ELISA	Ensaio imunoenzimático
S.	<i>Sporothrix</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase
DHN	1,8-di-hidroxi naftaleno
CoA	Sintetizada a partir de acetil-coenzima A
PAS	Ácido periódico de Schiff rRNA
Ácido ribonucleico ribossomal	$\mu\text{m}$ Micrômetro

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	
12		
2	<b>ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA</b> .....	
13		
3	<b>PATOGENIA</b> .....	
16		
4	<b>MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS</b> .....	
17		
5	<b>COLETA DE AMOSTRAS</b> .....	
19	<b>DIAGNÓSTICO</b> .....	
21		
6.1	CITOLOGIA .....	23
6.2	CULTURA E IDENTIFICAÇÃO FÚNGICA.....	23
6.3	HISTOPATOLOGIA .....	25
6.4	DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO .....	26
6.4.1	Ensaio imunoenzimático - ELISA .....	27
6.4.2	Reação em cadeia da polimerase - PCR .....	28
7	<b>TRATAMENTO</b> .....	29
8	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	31
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	32



## 1 INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma micose subcutânea causada pelo fungo *Sporothrix schenckii*, que acomete o homem e os animais. A distribuição da esporotricose é mundial, ocorrendo principalmente em áreas tropicais e subtropicais, como o nosso país. Na natureza ou em cultura à temperatura de 25° C, o *S. schenckii* apresenta-se na forma filamentosa, e em parasitismo ou cultura a 37° C, apresenta-se sob a forma de levedura. Geralmente é encontrado no solo, crescendo em plantas, cascas de árvores, vegetais e material em decomposição, estando preferencialmente presente em ambientes quentes e florestas úmidas (BRUM, 2007).

Epidemiologicamente a esporotricose é considerada uma micose universal, ocorrendo em condições climáticas tropical e subtropical. Embora seja prevalente nos EUA, tem maior importância epidemiológica nas Américas Central e do Sul, principalmente no México e no Brasil (LARSSON, 2011).

No Rio de Janeiro a incidência da esporotricose adquirida pelo contato com gatos contaminados vem aumentando e esta doença é considerada de notificação obrigatória (NUNES; ESCOSTEGUY, 2005).

A esporotricose pode acometer diversas espécies de animais e já foi descrita em equinos, cães, felinos, bovinos, suínos, camelos, primatas e no homem. A transmissão da doença é resultante da inoculação direta do fungo por meio de arranhadura e/ou mordedura de animais afetados ou por pequenos traumas durante atividades de lazer ou ocupacionais que tenham relação com floricultura, horticultura e jardinagem (MEGID et al., 2016).

Os gatos têm um importante papel epidemiológico na transmissão e propagação da doença, principalmente os não castrados e de livre acesso à rua uma vez que as lesões cutâneas nestes animais contêm uma grande quantidade de células fúngicas infectantes que os distinguem de outras espécies e os caracterizam como notável fonte de infecção (SCHUBACH et al., 2004).

Diferentes técnicas têm sido utilizadas nos diagnósticos da esporotricose, os padrões ouro como o cultivo micológico, a citologia e a histopatologia são os mais utilizadas, contudo outros métodos diagnósticos têm sido aprimorados e empregado

nos diagnósticos laboratoriais da esporotricose como métodos moleculares (MEGID et al., 2016).

## 2 ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA

A esporotricose é uma micose subcutânea com uma evolução subaguda a crônica, sendo causada pelo fungo do complexo *Sporothrix schenckii*. Este é um fungo dimórfico, geofílico, encontrado na natureza em solo rico em matérias em decomposição, folhas secas, madeiras e espinhos de plantas (KAUFFMAN, 1999).

Megid et al (2016) descrevem que por serem fungos dimórficos o *Sporothrix schenckii* é encontrado sob duas formas: na natureza e em temperatura ambiente, este é encontrado em colônias filamentosas que inicialmente apresentam uma cor branca, acinzentada ou creme, e se encontram na forma de levedura em parasitismo apresentando colônias lisas e úmidas, de aspecto cremoso e coloração bege amarelada.

O *Sporothrix schenckii* coletado da secreção purulenta da lesão esporotricótica apresenta característica baciliformes, sob a forma de corpúsculos Gram positivos, fagocitados por leucócitos polimorfonucleares (Lacaz et al., 2002).

Megid et al (2016) afirmam a existência de ao menos de seis espécies do complexo *Sporothrix* baseado nas análises da sequência de sínteses de quitina, Btubulina e calmodulina e são denominadas, *Sporothrix brasiliensis*, *Sporothrix schenckii*, *Sporothrix globosa*, *Sporothrix mexicana*, *Sporothrix pallida* e *Sporothrix luriei*.

Segundo Schubach et al. (2012) a esporotricose é considerada um risco ocupacional para indivíduos que trabalham com solo, plantas ou materiais vegetais, pois a principal forma de infecção é através da inoculação do fungo devido à perfuração por espinhos ou lascas de madeira. Existe transmissão zoonótica, através de mordidas ou arranhões de ratos, tatus, gatos e cães, sendo os gatos a espécie animal mais associada com essa forma de contágio, devido principalmente à grande quantidade de leveduras nas lesões, mas também por carregarem o agente em grande quantidade nas unhas e na cavidade oral.

Segundo Megid et al. (2016) em cães a esporotricose não está associada ao gênero, contudo está associada a contactantes felinos ou em acidentes traumáticos com felinos infectados.

A transmissão da esporotricose ocorre através do implante traumático do fungo na pele, então para que a infecção se estabeleça, é preciso que exista uma lesão prévia da epiderme (KAUFFMAN et al., 2007).

Pode ocorrer a transmissão por inalação de conídios, porém de forma rara, levando à possibilidade da forma sistêmica da doença, principalmente em humanos com estado imunocomprometido (ALMEIDA; ALMEIDA, 2015).

Megid et al. (2016) diz que as formas de infecção em animais domésticos ocorrem a partir do ato de escavar e encobrir dejetos com terra, por lesões subcutâneas causadas por arranhadura e mordedura de um felino infectado ou pelo contato do exsudado das lesões cutâneas.

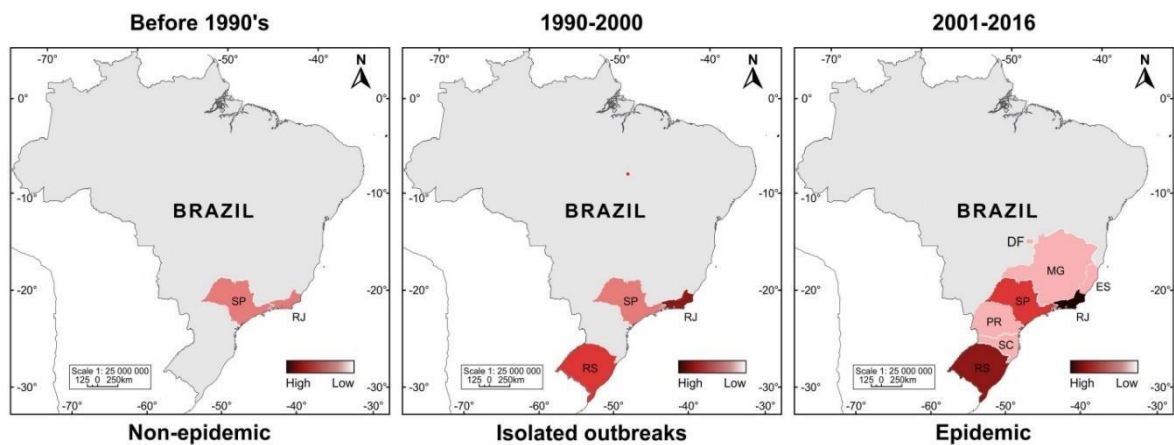
A esporotricose entre os animais domésticos manifesta-se de forma cutânea localizada, cutânea linfática e cutânea disseminada. Observam-se em casos graves a manifestação sistêmica da doença, com comprometimento de diversos órgãos como pulmões, linfonodos internos, fígado, baço e rim (SCHUBACH et al., 2012).

Almeida e Almeida (2015) evidenciam um papel importante dos felinos infectados com acesso à rua, na transmissão da esporotricose para outras espécies de animais cães, felinos saudáveis, quanto de maneira zoonótica para os humanos.

Segundo Megid et al. (2016) a distribuição geográfica da esporotricose é universal, contudo ocorre principalmente em regiões de clima temperado e tropical pelos aspectos de alta umidade e temperatura dessas regiões, na América Latina é a micose subcutânea mais comum com muita relevância no Brasil.

Barros (2008) aponta significativa mudança no perfil de transmissão, assumindo o status de epidemia no Rio de Janeiro. Apesar disso, a esporotricose segue subnotificada neste estado, figurando entre as doenças negligenciadas. Nesse contexto, o felino doméstico é o principal animal acometido por essa micose, bem como transmissor (Figura1).

**Figura 1-** Evolução espaço-temporal dos casos de esporotricose felina no Brasil. Nas últimas duas décadas (1998-2016), o Brasil experimentou um surto de longa duração de esporotricose transmitida por gatos no Rio de Janeiro, com 4.669 casos relatados. Esporotricose transmitida por gato devido a *S. brasiliensis* frequentemente aparece na forma de surtos ou epidemias em um curto período. Notavelmente, antes da década de 1990, o Rio de Janeiro relatava um baixo número de casos, quase sempre não relacionados aos tipos de transmissão felina.



Fonte: Gremião et al (2017).

Na epidemia do Rio de Janeiro, no período de 1998 a 2009, foram diagnosticados cerca de 120 cães com esporotricose, adquirida principalmente através do contato com gatos doentes. Os cães parecem não desempenhar um papel na cadeia epidemiológica da doença, pois, até dezembro de 2009, não havia registro da transmissão zoonótica do fungo ao ser humano por estes animais (BARROS et al., 2010).

O resultado da endemia no Rio de Janeiro pode ser causado por uma complexa interação patógeno-hospedeiro-ambiente, incluindo elevada susceptibilidade do gato e alta virulência do patógeno, comportamento dos gatos e recente introdução da esporotricose a uma população de felinos urbanos (MONTENEGRO et al., 2014).

Grande aumento da frequência de ocorrências da esporotricose tem sido observado nos últimos anos no Brasil, principalmente na espécie dos felinos. Nestes, tem a predominância em machos com faixa etária inferior a quatro anos, não



castrados, não domiciliados ou com livre acesso à rua, contudo, já foi relatado em muaras, asininos, bovinos, suínos, caprinos, chimpanzês, raposas, camelos, ratos, hamsters, camundongos e golfinhos (MEGID et al., 2016).

### 3 PATOGENIA

Os fatores de patogenicidade são responsáveis pelo aumento da virulência de um agente microbiano durante a infecção e por isso a origem destes mecanismos tem sido alvo de vários estudos. Microrganismos em geral, quando em contato com o solo adquirem condições que facilitam sua sobrevivência e conseqüentemente aumentam seu poder de infecção e virulência (CASADEVALL, 2006).

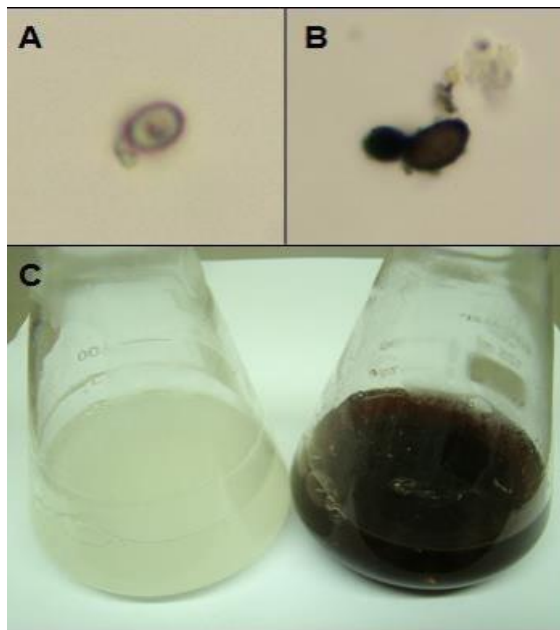
Segundo Larsson (2011) o *Sporothrix spp.* tem como característica a produção de melanina, fazendo-o ser classificado como um fungo demácio, ou seja, a melanina produzida o protege da fagocitose, da destruição macrofágica.

Barros et al (2010) demonstram que fatores como dimorfismo, termotolerância, enzimas extracelulares, componentes da parede celular e presença de melanina estejam envolvidos na patogenicidade de *Sporothrix schenckii*. *Sporothrix spp.* pode produzir enzimas extracelulares como proteinases e fosfatases, além de apresentar termotolerância e síntese de melanina.

Segundo Morris-Jones et al (2003) apenas a fase miceliana do fungo é melanizada, no entanto a produção de melanina em leveduras foi demonstrada *in vitro* e durante a infecção. A formação de melanina, sem adição de precursores, foi observada somente em leveduras e conídios.

O precursor mais comum para a síntese de melaninas fúngicas é a L-tirosina, dois tipos de melanina podem ser formados na presença deste aminoácido precursor: eumelanina (Figura 1B), piomelanina (Figura 1C). O principal tipo de melanina encontrado dentro do reino *fungi* é a melanina 1,8-di-hidroxi naftaleno (DHN) (Figura 4A) sintetizada a partir de acetil-coenzima A (CoA) ou malonil-CoA por vias de produção de policetídeos (ALMEIDA-PAES et al., 2012).

**Figura 2-** Três tipos distintos de melanina produzidos por *Sporothrix spp.* A) melanina DHN evidenciando o contorno de um conídio; B) eumelanina produzida por leveduras na presença de LDOPA e C) piomelanina produzida por leveduras em meio adicionado com Ltirosina à direita; o frasco à esquerda continha leveduras mortas e foi usado como controle.



Fonte: Almeida-Paes et al. (2012)

Melanização também tem importância na patogênese da esporotricose cutânea, uma vez que amostras pigmentadas selvagens de *Sporothrix schenckii* apresentaram maior capacidade invasiva do que uma cepa mutante albina em um modelo experimental de esporotricose em ratos (MADRID et al., 2010).

#### 4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A esporotricose apresenta manifestações clínicas sendo polimórficas e podem ser classificadas por extracutâneas apresentando manifestações pulmonar primária ou sistêmica e a manifestação cutânea apresenta lesões cutâneas fixas, linfocutânea e cutânea disseminada, em muitos casos mais de uma forma pode ser observada (MEGID et al., 2016).

Bazzi et al. (2016) apresentam um estudo descrevendo as alterações das lesões macroscópicas das manifestações cutâneas. Foram estudados 10 gatos, destes, oito eram machos e duas fêmeas. todos apresentaram manifestações cutâneas, foram observados nas lesões macroscópicas com nódulos ulcerados e não ulcerados com massas e placas ulceradas (Figura 2), apresentam grossas crostas e bordos elevados e exsudativos (Figura 3).

**Figura 3** - Placa ulcerada, circular e bem delimitada na face dorso-lateral da região metacarpiana, na esporotricose felina



Fonte: Bazzi (2016).

**Figura 4** - Placas ulceradas, bem circunscritas, eritematosas, circulares a ovaladas e com presença de exsudato, localizadas na borda lateral da orelha, na base medial da orelha e na lateral da face, na esporotricose felina.



Fonte: Bazzi (2016)

Megid et al. (2016) descrevem a manifestação linfocutânea, que se caracteriza por uma disseminação fúngica a partir do inoculo cutâneo primário, para que haja transmissão para o sistema linfático adjacente, causando múltiplos nódulos subcutâneos, úlcera e linfadenite regional.

No homem, dentre as formas relatadas, a infecção linfocutânea localizada após inoculação traumática do agente na pele é a mais frequente (KAUFFMAN, 1999).

Após a entrada do agente no tegumento, inicia-se o período pré-patente com duração média de 21 dias, dependendo do estado imunológico do hospedeiro, podendo até envolver espontaneamente ou podendo variar entre 3 a 84 dias, (LARSSON, 2011).

Segundo Macêdo-Sales et al. (2018) os sinais clínicos da manifestação cutânea como dificuldade respiratória, espirros, secreção nasal, emagrecimento, apatia, epistaxe, secreção ocular, dificuldade de locomoção, aumento de volume localizado, dor ao toque.

## 5 COLETA DE AMOSTRAS

Existem diversos métodos de coleta de material, dentre eles, destacam-se: o uso de *swab* estéril para cultura micológica, o esfregaço por aposição (*imprint*), em

lâmina de vidro para citologia, a punção aspirativa por agulha fina para citologia e a biópsia para o exame histopatológico (SANTOS et al., 2018).

Segundo Megid et al. (2016) diferentes técnicas têm sido utilizadas nos diagnósticos da esporotricose, contudo na rotina, o cultivo micológico, a citologia, a histopatologia seja mais utilizado o método mais fidedigno para confirmar o diagnóstico da doença é o isolamento microbiológico com identificação do patógeno.

Santos et al. (2018) aponta que na prática clínica e nas ações a campo, as coletas com *swab* e o *imprint* são os mais fáceis e viáveis de serem realizados. Ambos devem ser precedidos por limpeza inicial da ferida com gaze e clorexidina degermante dois por cento. Esta limpeza diminui a contaminação das culturas por bactérias e fungos contaminantes, além de retirar parte do exsudato e do sangue da lesão, facilitando a leitura das lâminas no laboratório.

A coleta com a raspagem com zaragatoa (*swab*) (Figura 4), um tipo de haste flexível estéril, deve ser realizada friccionando-o em uma lesão preferencialmente inicial, sem crostas e pequena. Essa haste será, então, armazenada em meio de transporte Stuart e enviada ao laboratório, o mais rápido possível, para realização da cultura micológica (MEGID et al, 2016).

**Figura 5** - Coleta de material para o diagnóstico de esporotricose. A: importância do EPI durante o procedimento. B: limpeza da ferida. C: *swab* da ferida. D: *imprint* para citopatologia.

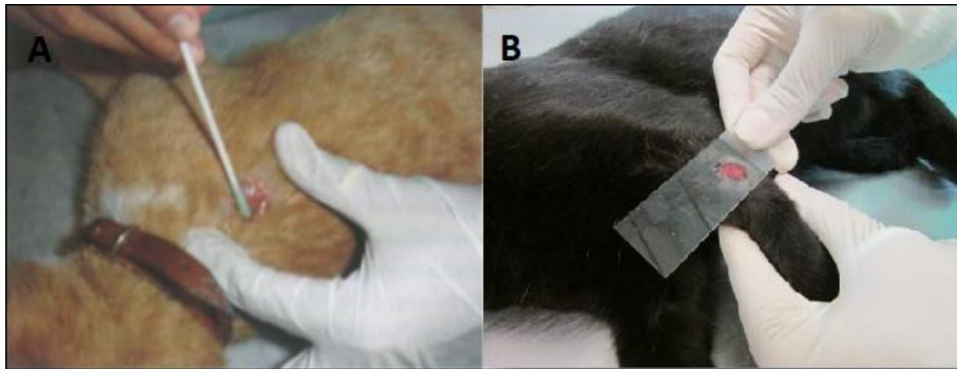


Fonte: Telmo Ferreira (2010).

O *imprint* é feito, geralmente, pressionando-se uma lâmina de vidro três vezes, sobre a lesão ulcerada, em locais diferentes da lâmina (Figura 5). Caso a lâmina

apresente excesso de secreções, a mesma deve ser descartada apropriadamente. Em seguida, recomenda-se que a coloração seja feita com os corantes azul de metileno e eosina, que pode ser realizada no próprio consultório ou à campo. Após a coloração, deve-se lavar delicadamente a lâmina corada, utilizando-se somente um fio de água, e proceder com sua secagem completa, agitando a lâmina no ar. Tendo acesso a um microscópio comum, a análise da lâmina pode ser feita imediatamente ou ser enviada a um laboratório de micologia (SILVA et al., 2015).

**Figura 6** - Coleta de material para análise citológica (A) coleta de amostra com *Swab* (B) Utilizando a técnica de *imprint*



(A) Fonte: Cruz (2010) (B) Fonte: Arquivos FIOCRUZ (2011)

Métodos de coleta podem ser utilizados em situações específicas, a biópsia, realizada com o animal sedado, é mais indicada para o diagnóstico canino, uma vez que essa espécie apresenta baixa carga fúngica em suas lesões (SCHUBACH et al., 2006).

Segundo Santos et al. (2018) a punção aspirativa por agulha fina é indicada em animais com lesão nodular no plano nasal, sem ulceração. Tanto o método de punção aspirativa por agulha fina quanto o método de biópsia, devem ser realizados em local adequado e por profissionais experientes, especialmente a biópsia.

## 6 DIAGNÓSTICO

A presença de lesões ulceradas de aspecto gomoso em animais, principalmente na região de face e dos membros, deve chamar a atenção para o diagnóstico da esporotricose, são utilizados métodos como citologia, histopatologia, cultura, identificação fúngica e diagnóstico sorológico (MEGID et al, 2016).

O exame direto de microscopia é obtido através da pesquisa de secreções, escamas ou cortes histológicos de pele. As amostras de pele são examinadas à fresco com clarificação potássica ou após colorações como Gram, Giemsa, Gomori ou PAS (Lacaz et al. 2002).

## 6.1 CITOLOGIA

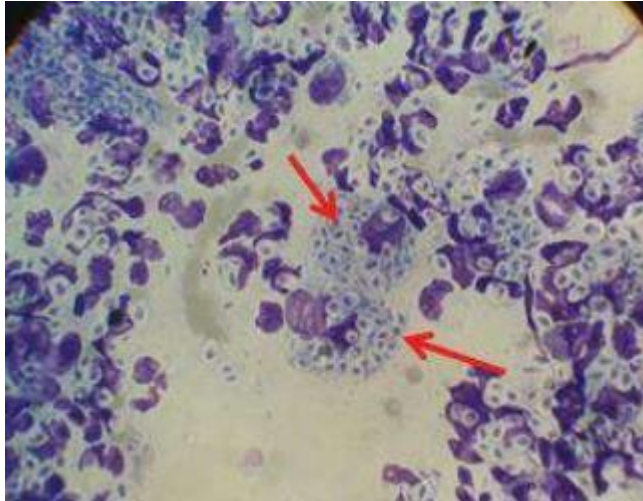
Segundo Silva et al (2015) a citologia apresenta sensibilidade de 84,9%, ou seja, o resultado positivo possibilita o início imediato do tratamento. No caso de resultado negativo, o diagnóstico definitivo é realizado por meio de cultura e identificação fúngica.

Megid et al. (2016) descreve que o exame citológico a partir das lesões dermatológicas desenvolvidas na esporotricose tem se mostrado confiável como método de triagem, este exame é pouco invasivo e de baixo custo, os procedimentos para a execução são simples e rápidos o que possibilita sua realização ambulatorial.

Quando presente no tecido, *Sporothrix spp.* apresenta-se na forma de leveduras ovais a arredondadas, e mais comumente alongadas, medindo aproximadamente 5-8  $\mu\text{m}$ , fagocitadas ou livres (Figura 6) (SILVA et al., 2015).

**Figura 7** - Citologia de lesão de gato (1000X) por *imprint*: Formas leveduriformes de *Sporothrix spp.* livres ou fagocitadas no citoplasma de macrófagos, envoltas por halo claro (setas vermelhas). Coloração por panótico.





Fonte: Laboratório de Micologia e Micotoxinas -LAMICO/UFMG (2018).

As amostras para o exame citológico podem ser coletadas utilizando *swabs*, impressão do exsudato ou aspiração com agulhas finas, devendo ser imediatamente fixadas e coradas. A coloração de escolha mais comum na prática clínica é a de *Wright* modificado, essa coloração não fornece boa diferenciação de estruturas citoplasmáticas e de microrganismos (MEGID et al., 2016).

Silva et al. (2015) após estudo sobre a citologia feita por *imprint* em amostras coletadas no Rio de Janeiro afirmaram que a sensibilidade da citologia por *imprint* detectada foi menor (52,6%) do que a encontrada na cultura micológica (95,2%), contudo, a sensibilidade pela citologia foi maior (81,6%) para um grupo de felinos assistido pelo centro de referência do Rio de Janeiro para o diagnóstico da esporotricose, validando a técnica como recurso seguro, rápido e de baixo custo para o diagnóstico presuntivo da esporotricose em gatos domésticos.

## 6.2 CULTURA E IDENTIFICAÇÃO FÚNGICA

O padrão ouro para o diagnóstico da esporotricose é o isolamento através de cultura, sendo considerado um método de diagnóstico simples e de baixo custo. Os patógenos são obtidos através do exsudato das lesões sendo coletados por *swabs* ou biópsias de lesão cutânea e inoculados no meio de cultivo (SANTOS et al., 2018).

Kauffman (1999) apresenta que o isolamento em cultivo é o método de escolha para o diagnóstico de esporotricose, porém pode ser negativa nas formas localizadas



da doença. Para o cultivo podem ser utilizados pus, exsudato, material de curetagem, *swab* de lesões abertas e aspirados de nódulos subcutâneos. Líquido sinovial e sangue também podem ser utilizados para cultura, dependendo da apresentação clínica da doença.

O isolamento do fungo em cultura é mais difícil nas apresentações cutâneas, em virtude de escassez de parasitas nesta forma clínica da doença. Nas formas disseminadas o número de unidades parasitárias é maior, sendo possível o isolamento com mais facilidade (LACAZ et al., 2002).

Segundo Megid et al. (2016) a cultura fúngica pode ser efetuada a partir do exsudato, coletado por *Swab* estéril ou curetagem a partir das lesões, porém preferencialmente deve ser realizada a partir de fragmentos de biopsia cutânea.

Rippon (1988) demonstra que *Sporothrix spp* cresce bem em quase todos os meios de cultura, devendo-se utilizar meios com antibiótico quando se cultivar material de lesões abertas e as colônias crescem em média de três a sete dias, devendo-se esperar até quatro semanas para considerar a amostra negativa.

A cultura pode ser realizada inicialmente em meio de ágar *Sabouraud* dextrose acrescido de cloranfenicol ou ágar Mycosel a 25°C por cinco a sete dias, podendo ser por um tempo maior. Após o crescimento de um fungo hialino na forma filamentosa que com o tempo adquire a capacidade de produzir melanina, este é inoculado em meio de ágar infusão de cérebro e coração e incubado a 37°C por cinco a sete dias, visando à conversão do fungo para a forma leveduriforme, com aspecto cremoso e coloração amarelada, concluindo-se assim o diagnóstico micológico (BARROS et al., 2011). A adição de tiamina e biotina as culturas e também o baixo teor de gás carbônico facilitam a conversão da forma filamentosa em leveduriforme (LACAZ et al., 2002).

Em ágar *Sabouraud* acrescido ou não de nutrientes, na temperatura ambiente, o fungo cresce com superfície rugosa ou pregueada e membranosa, de coloração que varia de branco a creme, tornando-se com o tempo amarela, marrom ou negra, apresenta ainda uma cobertura de micélio aéreos (Figura 7), colônias mais novas apresentam a cor creme e tornam-se escurecidas em com o tempo, ficando com aspecto listrado; colônias mais antigas, sucessivamente repicadas, perdem as características fenotípicas de se expressar com esse pigmento (MEGID et al., 2016).

**Figura 8**– Cultura fúngica de *Sporothrix schenckii*, em Agar Sabouraud, com aspecto micelial, de centro enrugado, aderente ao meio e de cor marrom-escuro



Fonte: (MEGID et al, 2016)

*Sporothrix* spp. é um fungo de crescimento lento e o método padrão de referência requer a conversão para a fase de levedura por subcultura a 37 ° C. Isso representa um tempo médio para um resultado diagnóstico em torno de 30 dias (GREMIÃO et al., 2020).

### 6.3 HISTOPATOLOGIA

A histopatologia é um dos métodos mais indicados para o diagnóstico preliminar da esporotricose, uma vez que, utilizando-se dela é possível a visualização das estruturas leveduriformes compatíveis com *Sporothrix* spp. Além disso, o exame histopatológico possibilita a exclusão de outros diagnósticos diferenciais como carcinoma de células escamosas, criptococose, histoplasmose, leishmaniose e micobacterioses cutâneas (SCHUBACH et al., 2003).

O exame histopatológico é, geralmente, utilizado para sugerir o diagnóstico, através de achados não específicos, que variam com a fase evolutiva da doença, associados ou não ao encontro de leveduras. Se tem forte sugestão do diagnóstico quando encontrado *Sporothrix schenckii* nos cortes histológicos (SILVA et al., 2013).

Nos nódulos linfáticos encontramos pequenos granulomas dispersos no infiltrado inflamatório dérmico. Com a cronicidade, as lesões apresentam três zonas características: uma zona central ou “supurativa”, composta por neutrófilos; uma zona intermediária, composta de células epitelióides e uma zona periférica, composta de células linfóides e plasmáticas (LACAZ et al., 2002).

Segundo Megid et al. (2016) a avaliação histopatológica das lesões da esporotricose em cães e gatos geralmente revela a epiderme acantótica e ulcerada, com deposição de crostas e variável quantidade de pústulas, na derme papilar e reticular, observa-se intensa inflamação, composta de macrófagos, neutrófilos, linfócitos e plasmócitos, em padrão nodular difuso.

No interstício da derme, e no citoplasma de macrófagos epitelióides e células gigantes multinucleadas encontram-se numerosas estruturas leveduriformes únicas ou com brotamento, redondas, ovais ou alongadas medindo 5 a 9 µm de comprimento por 2 a 5 µm de largura (SILVA et al., 2013).

A diferenciação da esporotricose felina das doenças nas outras espécies é a quantidade abundante de levedura, facilmente visualizadas, mesmo em colorações histoquímicas de rotina, como a hematoxilina-eosina, fato não evidenciado no tecido infectados em cães e humanos. Já em felinos o granuloma formado é frouxo, composto basicamente de macrófagos, que se mostram incapazes de limitar a proliferação fúngica (MEGID et al., 2016).

#### **6.4 DIAGNÓSTICO SOROLOGICO**

A prova de aglutinação em partículas de látex sensibilizado é considerada o método mais sensível e específico no diagnóstico das formas cutânea e extra cutânea da esporotricose humana, quando comparado com as provas de fixação de complemento, imunodifusão. No entanto, em veterinária as provas sorológicas apresentam resultados variáveis e por vezes controverso (MEGID et al., 2016).

Na técnica de aglutinação, uma amostra que contém o anticorpo específico é misturada ao látex previamente sensibilizado com o antígeno específico ou o anticorpo e de aparência leitosa, assim ocorrerá uma aglutinação visível, ou seja, formação do

complexo antígeno-anticorpo. O grau de aglutinação será em função da concentração do aglutinante e do aglutinado (BANGS, 1996).

Kauffman (1999) diz que os testes sorológicos têm sido utilizados para diagnóstico, com resultados ainda pouco definidos. Os testes de aglutinação em látex são considerados mais sensíveis. Os títulos sorológicos são positivos após três a quatro semanas de doença.

Testes imunológicos cutâneos com esporotriquina têm utilidade limitada pela sua baixa especificidade, servindo para inquérito epidemiológico e, algumas vezes, como auxílio para diagnóstico e diferenciação entre esporotricose e leishmaniose em cães. O teste negativo é útil para excluir o diagnóstico de esporotricose, porém, o teste pode ser positivo por reação cruzada com outras micoses (LARSSON, 2011).

Segundo Megid et al. (2016) O desenvolvimento de provas sorológicas específicas e sensíveis para o diagnóstico é de grande importância especialmente para cães que apresentam escassa quantidade de fungo tecidual.

#### **6.4.1 Ensaio imunoenzimático - ELISA**

Técnicas imunológicas mais sensíveis começaram a ser padronizadas para utilização no sorodiagnóstico da esporotricose. Cinco técnicas de ELISA que pesquisaram imunoglobulinas do isótopo G. Uma utilizando extrato bruto de cultivo da forma leveduriforme, duas utilizando um antígeno purificado da parede celular da forma leveduriforme, outra utilizando extrato bruto do cultivo da forma filamentosa de *Sporothrix schenckii* (ALMEIDA-PAES et al., 2007a).

Almeida Paes et al. (2007b) demonstram valores satisfatórios de sensibilidade variando de 90% a 97%, e especificidade variando de e 86% a 89% e apresenta outra técnica de ELISA descrita para esporotricose. A técnica consiste em pesquisar a presença de imunoglobulinas G, M e A, sendo que as imunoglobulinas M e A participam da patogenia da esporotricose, as imunoglobulinas M são produzidas no início da infecção e as imunoglobulinas A são produzidas quando a infecção ocorre em mucosas.

Segundo Gremião et al. (2020) um teste ELISA foi disponibilizado em laboratórios para o diagnóstico preliminar da esporotricose felina, este teste ELISA

detecta anticorpos IgG contra um antígeno purificado de *Sporothrix ssp.* (SsCBF) e foi validado recentemente para todas as formas clínicas de esporotricose felina.

Baptista et al. (2020) realizou um estudo durante 12 meses utilizando felinos independentemente de raça, sexo ou idade. Utilizando ELISA com antígeno SsCBF purificado e isolado da parede do *S. schenckii* para detecção de anticorpos IgG antiSsCBF demonstrando dados promissores para aplicação do SsCBF ELISA para diagnosticar infecção felina causada por *S. brasiliensis* e monitorar o tratamento terapêutico já que o ELISA foi sensível no pré-diagnóstico, independentemente da terapia antifúngica concomitante ou anterior, durante a realização do estudo.

Gremião (2020) relata que os níveis de IgG caem de acordo com a resposta terapêutica, contudo foi observado que a exposição continua ao agente infeccioso por meio de um ambiente contaminado pode manter altos níveis de anticorpos e uma sorologia positiva (soroconversão), por isso os resultados dos testes diagnósticos devem ser sempre associados aos achados clínicos.

Segundo Fernandes et al. (2011) a técnica de ELISA utilizando o antígeno SsCBF apresentou valores de sensibilidade e especificidade de 90% e 96% com uma eficiência global de 93%.

Segundo Coelho (2013) ensaios imunoenzimáticos podem contribuir para o diagnóstico da esporotricose, porém um desafio é obter um teste de alta sensibilidade e ao mesmo tempo alta especificidade, devido às diversas infecções fúngicas, responsáveis pelas reações cruzadas.

Guimarães et al. (2004) explicam ensaios imunoenzimáticos para o diagnóstico de outras doenças causadas por fungos dimórficos estão disponíveis, entretanto a utilização da técnica sem modificações não permite obter valores satisfatórios de especificidade para esporotricose.

#### **6.4.2 Reação em cadeia da polimerase - PCR**

O método do PCR foi desenvolvido para a detecção do agente, diretamente a partir de amostras teciduais biopsiadas de pacientes, felinos e humanos, com esporotricose, recorrendo-se a primers oligonucleotídeos baseados no gene

quitinasintetase 1 (CHS1) do *S. schenckii*, contudo no hemisfério sul, não existem relatos de sua utilização (LARSSON, 2011).

Segundo Oliveira et al. (2012) O desenvolvimento de métodos moleculares baseados na detecção de ácido desoxirribonucleico (DNA) para identificação de isolados fúngicos poderá promover uma redução no tempo do diagnóstico, mantendo ou melhorando a especificidade, sensibilidade e precisão quando comparado à cultura fúngica.

Kano et al. (2001) descreve a primeira PCR para a identificação de *Sporothrix spp.*, iniciadores baseados no gene codificador da quitina sintase 1 (CHS1) foram desenhados e a PCR foi capaz de detectar 10 pg de fragmento de DNA genômico de *Sporothrix spp* a partir do fragmento de lesão de pele obtido por biópsia de um gato com esporotricose.

Hu et al. (2003) relata uma PCR para detecção de *Sporothrix spp.* foi avaliada em amostras clínicas utilizando como alvo a região do gene 18S rRNA. Essa reação detectou DNA de *Sporothrix spp.* em amostras de tecidos de animais infectados, confirmados por cultura ou coloração histoquímica. O ensaio mostrou uma alta sensibilidade e especificidade, indicando que poderia permitir o diagnóstico rápido, com precisão suficiente para ser útil no diagnóstico de pacientes com esporotricose.

Oliveira et al. (2012) descreveram uma PCR *fingerprinting* utilizando o primer universal T3B permitindo assim a identificação de isolados clínicos a nível de espécie do complexo *Sporothrix*: *S. brasiliensis*, *S. globosa*, *S. mexicana* e *S. schenckii*. Esta metodologia é simples, confiável, rápida e de baixo custo, sendo um sistema de identificação ideal para utilização em laboratórios clínicos de micologia que não disponham de recursos para o sequenciamento de DNA.

## 7 TRATAMENTO

No passado, infecções por esporotricose humana eram tratadas com soluções saturadas de iodeto de potássio por via oral, em doses crescentes conforme a tolerância do paciente. Contudo, se a esporotricose estivesse localizada em região meninge cefálica, a aplicação do iodeto poderia ser feita por via raquiana (Lacaz et al., 2002).

Os iodetos apresentam efeitos adversos além do grande tempo de tratamento se utilizado sozinho, este longo tempo de tratamento contribui para o abandono do tratamento já que tem duração de três a seis meses. Atualmente, alguns antifúngicos mais eficazes como o itraconazol, cetoconazol, miconazol e clotrimazol são a classe de medicamentos azólicos, de preferência no tratamento clínico das afecções de esporotricose (YAMADA, 2011).

Existem poucos casos descritos com a aplicação do iodeto de potássio no tratamento da esporotricose felina, pois os resultados obtidos são controversos, contudo, foi sugerido que a associação de iodeto de potássio aos azólicos no tratamento da esporotricose possa apresentar melhores resultados quando comparado a monoterapia com azólicos (SCHUBACH et al., 2012).

Megid et al. (2016) descreve que o modo de ação dos iodetos ainda não é completamente compreendido, contudo se tem a hipótese que existe uma ação dos iodetos no aumento das atividades proteolíticas e na ação microbicida dos leucócitos polimorfonucleares, entretanto os iodetos apresentam efeitos colaterais como: anorexia, vômitos, diarreia, disqueratose, secreção oculonasal, depressão e colapso.

Segundo Chaves et al. (2012), o abandono do tratamento ocorre principalmente quando o tutor do animal nota melhora das lesões cutâneas e sinais clínicos, não retornando para o acompanhamento clínico e terapêutico, podendo assim ocorrer uma recidiva e uma disseminação tegumentar e sistêmica da esporotricose.

Os protocolos terapêuticos atualmente preconizados apresentam uma baixa efetividade em felinos e permanecem limitados pela dificuldade de administração dos fármacos por via oral (SCHUBACH et al., 2012).

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O exame citológico apresenta vantagens, como o baixo custo e a rapidez no resultado, contudo, no caso de resultado negativo, o diagnóstico definitivo é realizado por meio da cultura micológica.
- A histopatologia é um dos métodos mais indicados para o diagnóstico rápido da esporotricose. Além disso, o exame histopatológico possibilita a exclusão de outros diagnósticos diferenciais.
- O isolamento através de cultura fúngica é o padrão ouro para o diagnóstico da esporotricose, sendo considerado um método de diagnóstico simples e de baixo custo, contudo, é um método que apresenta uma demora maior ao dar um resultado e na forma localizada da doença pode apresentar falso negativo.
- A prova de aglutinação em partículas de látex sensibilizado é considerada o método mais sensível e específico no diagnóstico das formas cutânea e extra cutânea da esporotricose humana, porém, em veterinária as provas sorológicas como aglutinação em partículas de látex, fixação de complemento e imunodifusão apresentam baixa especificidade e sensibilidade para o diagnóstico da esporotricose em cães e gatos.
- Ensaio imunoenzimático (ELISA) podem contribuir para o diagnóstico diferencial de doenças causadas por fungos dimórficos, utilizando o teste de SsCBF ELISA podemos ter um ótimo resultado ao diagnosticar a esporotricose contudo, deve-se observar os achados clínicos para que não ocorra um falso positivo devido a soroconversão.
- O PCR é uma técnica rápida sendo um método simples, confiável e com uma sensibilidade alta para *Sporothrix spp.*, contudo no hemisfério sul não existe relatos da utilização da PCR para esporotricose.



## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L.G.F., ALMEIDA, V. G. F. Uma revisão interdisciplinar da esporotricose. **Rev. Elet. Est. Sau.**, v.4, n.2, p.180-192, 2015.
- ALMEIDA-PAES R, FRASES S, ARAUJO GDE S, DE OLIVEIRA MM, GERFEN GJ, NOSANCHUK JD, et al. Biosynthesis and functions of a melanoid pigment produced by species of the *sporothrix* complex in the presence of L-tyrosine. **Appl Environ Microbiol** 2012.
- ALMEIDA-PAES R, PIMENTA MA, PIZZINI CV, MONTEIRO PCF, PERALTA JM, NOSANCHUK JD et al. Use of mycelial-phase *Sporothrix schenckii* exoantigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of sporotrichosis by antibody detection. **Clin Vaccine Immunol**. 2007a.
- ALMEIDA-PAES, R. et al. Immunoglobulins G, M, and A against *Sporothrix schenckii* exoantigens in patients with sporotrichosis before and during treatment with itraconazole. **Clin Vaccine Immunol**, v.14, n.9, Sep, p.1149-57, 2007b.
- BANGS, L.B. New developments in particle-based immunoassays: introduction. **Pure & Appl Chem**, vol. 68, n.10, p.1873-79, 1996.
- BARROS MB, DE ALMEIDA PAES R, SCHUBACH AO. *Sporothrix schenckii* and Sporotrichosis. **Clin Microbiol Rev**. 2011.
- BARROS MB, SCHUBACH AO, SCHUBACH TM, WANKE B, LAMBERT-PASSOS SR. An epidemic of sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: epidemiological aspects of a series of cases. **Epidemiology and Infection**, 2008.
- BARROS MBL, SCHUBACH TP, COLL JO, GREMIÃO ID, WANKE B, SCHUBACH A. Esporotricose: A evolução e os desafios de uma epidemia. **Rev Panam Salud Publica**. 2010.
- BAPTISTA, V.S., MOTHÉ, G.B., SANTOS, G.M.P. ET AL. Promising application of the SsCBF ELISA test to monitor the therapeutic response of feline sporotrichosis caused by *Sporothrix brasiliensis* from Brazilian epidemics. **Braz J Microbiol**, 2020.
- BAZZI, T., MELO, S.M.P., FIGHERA, R.A. et al. Características clínicoepidemiológicas e histoquímicas da esporotricose felina. **Pesq. Vet. Bras**. v.36, n.4, p.303-311, 2016.
- BRUM, L. C.; CONCEIÇÃO, L. G.; RIBEIRO, V. M.; HADDAD JÚNIOR, V. Principais dermatoses zoonóticas de cães e gatos. **Clínica Veterinária**, n. 69, p. 29-46, 2007.

CASADEVALL A. Cards of virulence and the global virulome for humans. **Microbe**. 2006.

CHAVES AR, CAMPOS MP, BARROS MBL, CARMO CN, GREMIAO IDF, PEREIRA SA, et al. Treatment Abandonment in Feline Sporotrichosis - Study of 147 cases. **Zoonoses and Public Health**, 2012.

COELHO, L.M.L. **Padronização De Ensaio Imunoenzimático Para Diagnóstico Da Esporotricose**. Orientador: Prof. Dr. Luiz Cosme Cotta Malaquias. 2013. 49 p. Dissertação (Mestrado em Biociências Aplicadas à Saúde) - UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS, Minas Gerais, 2013.

FERNANDES GF, LOPES-BEZERRA LM, BERNARDES-ENGEMANN AR, SCHUBACH TMP, DIAS MAG, PEREIRA SA, CAMARGO ZP Serodiagnosis of sporotrichosis infection in cats by enzymelinked immunosorbent assay using a specific antigen, SsCBF, and crude exoantigens. **Vet Microbiol** 147:445–449, 2011.

GREMIÃO IDF, MIRANDA LHM, REIS EG, RODRIGUES AM, PEREIRA SA Zoonotic Epidemic of Sporotrichosis: Cat to Human Transmission. **PLoS Pathog**, jun, 2017.

GREMIÃO IDF, OLIVEIRA MME, MIRANDA LHM, FREITAS DFS, PEREIRA AS, Geographic expansion of sporotrichosis, Brazil. **Emerg Infect**, 2020.

GUIMARÃES, A. J. et al. ELISA for early diagnosis of histoplasmosis. **J Med Microbiol**, v.53, n.6, Jun, p.509-14, 2004.

HU S, CHUNG WH, HUNG SI, HO HC, WANG ZW, CHEN CH, LU SC, KUO TT, HONG HS. Detection of *Sporothrix schenckii* in clinical samples by a nested PCR assay. **J Clin Microbiol**. 2003.

KANO R, NAKAMURA Y, WATANABE S, TSUJIMOTO H, HASEGAWA A. Identification of *Sporothrix schenckii* based on sequences of the chitin synthase 1 gene. **Mycoses**. 2001.

KAUFFMAN CA, BUSTAMANTE B, CHAPMAN SW, PAPPAS PG. Clinical practice guidelines for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases** 2007.

KAUFFMAN CA. Sporotrichosis. **Clin Infect Dis** 1999;29(2):231-6; doi:10.1086/520190

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C.; HEINS-VACARRI, E.M.; MELO, N.K. **Tratado de Micologia Médica**. São Paulo: Sarvier, p.479-487, 2002.

LARSSON, C.E. Esporotricose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.48, n.3, p. 250-259, 2011.

MACÊDO-SALES PA, SOUTO SRLS, DESTEFANI CA, LUCENA RP, ROCHA EMS, BAPTISTAARS. Diagnóstico laboratorial da esporotricose felina em amostras coletadas no estado do Rio de Janeiro, Brasil: limitações da citopatologia por *imprint*. **Rev Pan-Amaz Saude**. 2018.

MADRID H, GENE J, CANO J, SILVERA C, GUARRO J. *Sporothrix brunneoviolacea* and *Sporothrix dimorphospora*, two new members of the *Ophiostoma stenoceras Sporothrix schenckii* complex. **Mycologia**, 2010.

MEGID, J; RIBEIRO, M.G; PAES, A.C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Roca, p. 918-935, 2016.

MORRIS-JONES, R. Sporotrichosis. **Clin Exp Dermatol**, v.27. p. 427-431, 2002.

MONTENEGRO, H.; RODRIGUES, A. M.; DIAS, M. A. G.; SILVA, E. A.; BERNARDI, F.; CAMARGO, Z. P. Feline Sporotrichosis due to *Sporothrix Brasiliensis*: An Emerging Animal Infection In São Paulo, Brazil. **Biomed Central Veterinary Research**, 2014.

NUNES, C. F., ESCOSTEGUY, C. C., Esporotricose humana associada à transmissão por gato doméstico. Relato de caso e revisão de literatura, **Revista de Educação Continuada do Clínico Veterinário de Pequenos Animais**, v. 54, p. 66-68, 2005,

OLIVEIRA MME, SAMPAIO P, ALMEIDA-PAES R, PAIS C, GUTIERREZGALHARDO MC, et al. Rapid Identification of *Sporothrix* Species by T3B Fingerprinting. **J Clin Microbiol**, 2012.

RIPPON J. Sporotrichosis, p.325-352. In: Rippon J. (Ed.), **Medical Mycology: the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes**. 3rd ed. W.B. Saunders, Philadelphia, 1988.

SCHUBACH TMP, MENEZES RC, WANKE B. SPOROTRICHOSIS. IN: GREENE CE, editor. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4 ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; p. 645-650, 2012.

SCHUBACH TMP, SCHUBACH A, OKAMOTO T, BARROS MBL, FIGUEIREDO FB, CUZZI T, et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **J Am Vet Med Assoc**. 2004.

SILVA, M.A., MEDINA, R.M., RIBEIRO, R.B et al. Aspectos anatomopatológicos da esporotricose felina. **J. Bras. Ciência Animal**. v.6, n.11, p.418 – 426, 2013.

SILVA, J.N., PASSOS, S.R.L., MENEZES, R.C. et al. Diagnostic accuracy assessment of cytopathological examination of feline sporotrichosis. **Med. mycol.**, v.53, n.8, p.880-884, 2015.

SANTOS A.F et al. Guia Prático para enfrentamento da Esporotricose Felina em Minas Gerais. **Revista V&Z Em Minas**, n.137, p. 16-27, 2018.

YAMADA K, ZAITZ C, FRAMIL VM, MURAMATU LH. Cutaneous sporotrichosis treatment with potassium iodide: a 24 year experience in Sao Paulo State, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo** 2011.