

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ**

**CAMILLA FREITAS OLIVEIRA**

**COMPARAÇÃO ENTRE TÉCNICAS DE *IMPRINT* DAS GARRAS EM MEIO  
DE CULTURA E ESPALHAMENTO COM SWAB PARA ISOLAMENTO E  
IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS SUBUNGUEAIS DE GATOS HIGIDOS  
SEMIDOMICILIADOS**

**ILHÉUS-BA**

**2019**

**CAMILLA FREITAS OLIVEIRA**

**COMPARAÇÃO ENTRE TÉCNICAS DE *IMPRINT* DAS GARRAS EM MEIO DE CULTURA E ESPALHAMENTO COM SWAB PARA ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS SUBUNGUEAIS DE GATOS HIGIDOS SEMIDOMICILIADOS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador(a): Prof. DSc. Renata Santiago  
Alberto Carlos

**ILHÉUS-BAHIA**

**2019**

O48

Oliveira, Camilla Freitas.

Comparação entre técnicas de imprint das garras em meio de cultura e espalhamento com swab para isolamento e identificação de fungos subungueais de gatos higidos semidomiciliados / Camilla Freitas Oliveira. – Ilhéus, BA: UESC, 2019.

56 f. : il. ; anexos.

Orientadora: Renata Santiago Alberto Carlos.

Dissertação (mestrado) –Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

Referências: f. 45-52.

1. Gatos. 2. Gatos – Doenças. 3. Zoonoses. 4. Fungos. I. Título.

CDD 636.8089

**CAMILLA FREITAS OLIVEIRA**

**COMPARAÇÃO ENTRE TÉCNICAS DE *IMPRINT* DAS GARRAS EM MEIO DE CULTURA E ESPALHAMENTO COM SWAB PARA ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS SUBUNGUEAIS DE GATOS HIGIDOS SEMIDOMICILIADOS**

Ilhéus-Ba, 26/02/2019

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Renata Santiago Alberto Carlos

UESC/DCAA

(Orientadora)

---

Prof.Dr<sup>o</sup>. JoãoLucianoAndrioli

UESC/DCB

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Bianca Mendes Maciel

UESC/DCB

**ILHÉUS-BAHIA**

**2019**

## AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus por ter me sustentado até aqui e por ter me mostrado durante todas as fases da minha vida que sempre estive sob seus cuidados. Muito obrigada, Senhor!

Aos meus pais, José Renato e Genivalda Freitas, por todo o incentivo e apoio, sem os quais jamais teria chegado onde me encontro hoje.

A minha irmã, Júlia Freitas, que sempre esteve presente e me faz querer ser cada dia melhor.

A professora Dr<sup>a</sup> Renata Santiago Alberto Carlos, pela orientação e pelo acolhimento, dando-me a oportunidade de crescer profissionalmente.

Ao professor João Luciano Andrioli pela disponibilidade e paciência.

Ao professor Antônio Roberto Paixão Ribeiro pela disponibilização do Laboratório de Microbiologia para a realização do isolamento e identificação fúngica.

Aos alunos de Iniciação Científica que contribuíram muito para a realização dessa pesquisa, em especial Katharine Costa dos Santos.

Aos funcionários do Hospital Veterinário da UESC pelo carinho, compreensão e contribuição, em especial Maria Fabiana dos Santos que sempre se mostrou disposta e empenhada em contribuir.

A Paula Elisa Brandão Guedes por toda paciência e cuidado, partilhando seu conhecimento comigo.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz por possibilitar a execução do projeto de pesquisa.

A CAPES pela concessão de bolsas de estudo.

Por último, mas não menos importante, quero agradecer a Jamille Bispo de Carvalho, minha amiga e colega de mestrado, por toda parceria e amizade. Você tornou minha caminhada muito mais leve.

A todos, o meu muito obrigado!

## COMPARAÇÃO ENTRE TÉCNICAS DE *IMPRINT* DAS GARRAS EM MEIO DE CULTURA E ESPALHAMENTO COM SWAB PARA ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS SUBUNGUEAIS DE GATOS HIGIDOS SEMIDOMICILIADOS

### RESUMO

Os gatos possuem um importante papel na disseminação de zoonoses através da arranhadura e mordedura. Associado a esse fator, a estreita convivência entre os animais domésticos e o homem também facilita a disseminação de doenças transmitidas por esses animais. Esse compartilhamento do nicho urbano tem despertado o interesse e a necessidade de investigações acerca da ligação entre seres humanos e os animais domésticos como potenciais reservatórios de doenças, dentre as quais podemos destacar zoonoses fúngicas. Sendo assim, objetivou-se comparar as técnicas de *imprint* e espalhamento para o isolamento de colônias e identificação dos fungos patogênicos e não-patogênicos presentes nas garras dos felinos semidomiciliados da microrregião de Ilhéus e Itabuna, do estado da Bahia. A amostragem foi composta por 150 felinos, subdivididas em três grupos. No primeiro e segundo grupo os gatos semidomiciliados foram submetidos à técnica de *imprint*, na qual 50 gatos foram submetidos à antissepsia das garras dos membros torácicos e 50 submetidos à antissepsia das garras de apenas um dos membros torácicos. Para os dois grupos citados, a coleta foi realizada através do *imprint* dessas garras em placas de petri contendo Ágar Micobiótico Seletivo. O terceiro grupo foi composto, também, por 50 animais que, por sua vez, foram submetidos à técnica de espalhamento. Para essa última técnica, o material foi coletado friccionando-se um swab estéril, umedecido com caldo de infusão cérebro coração (BHI), nas garras dos membros anteriores; em seguida o swab umedecido foi transferido para um tubo de ensaio contendo caldo BHI, e uma alíquota do material contido no tubo de ensaio foi transferida para placas de petri contendo Ágar Micobiótico Seletivo. O tubo de ensaio contendo o caldo de infusão cérebro coração e o swab com material das garras dos felinos foi armazenado em temperatura de 25°C e após 24 horas foi incubado a 25°C

durante 30 dias. Para todas as técnicas, as leituras foram realizadas nos dias 05, 07, 15 e 30 pós incubação. A partir da técnica de espalhamento isolaram-se: *Mucor* sp., 25 (54,34%); *Rhodotorula* sp. 13 (28,26%); *Fusarium* sp., 10 (21,73%); *Aspergillus* sp., 10 (21,73%); *Trichoderma* sp., nove (19,56%); *Penicillium* sp., nove (19,56%); *Cladosporium* sp., cinco (10,86%); *Rhizopus* sp., quatro (8,68%); *Acremonium* sp., três (6,5%); *Exophiala* sp., três (6,5%); *Paecilomyces* sp., dois (4,34%); *Trichosporon* sp.; dois (4,34%); e um *Geotrichum* sp. (2,17%).

**Palavras-chave:** *Felis catus*. Identificação fúngica. Garras.

## COMPARISON BETWEEN *IMPRINT* TECHNIQUES OF CLAWS IN CULTURE AND SCATTERING WITH SWAB FOR ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SUBUNGAL FUNGUS OF SEMIDOMICILIATED CATS

### ABSTRACT

Cats play an important role in the spread of zoonoses through scratching and biting. Associated with this factor, the close coexistence between domestic animals and humans also facilitates the spread of diseases transmitted by these animals. This sharing of urban niche has aroused the interest and the need for research on the link between humans and domestic animals as potential reservoirs of diseases, among which we can highlight fungal zoonoses. Thus, the objective of this study is to compare *imprint* techniques and spreading to isolation of colonies and identification of pathogenic and non-pathogenic fungus present in the claws of semidomiciliated felines from the micro region of Ilhéus and Itabuna, of the state of Bahia. The sample consisted of 150 felines, subdivided into three groups. In the first and second group the semidomiciliated cats were submitted to the imprint technique, where 50 cats underwent antiseptics of the claws of the thoracic limbs and 50 underwent antiseptics of the claws of only one of the thoracic limbs. For both groups mentioned, the collection was performed by imprinting these claws in petri dishes containing Selective Mycobiotic Agar. The third group, therefore, also composed by 50 animals submitted to scattering technique. For this last technique, the material was collected by rubbing a sterile swab moistened with brain-heart infusion broth (BHI), in the claws of forelimbs, then the moistened swab was transferred to a test tube containing BHI broth, where an aliquot of the material contained in the test tube was transferred to petri dishes containing Selective Mycobiotic Agar. The test tube containing the brain heart infusion broth and the feline claw material swab was stored at 25°C during 30 days. For all techniques, readings were performed on days 05, 07, 15 and 30 post incubation. From the scattering technique the following were isolated: *Mucor* sp., 25 (54,34%); *Rhodotorula* sp. treze (28,26%); *Fusarium* sp., 10 (21,73%); *Aspergillus* sp., 10 (21,73%);

*Trichoderma* sp., nine (19,56%); *Penicillium* sp., nine (19,56%); *Cladosporium* sp., five (10,86%); *Rhizopus* sp., four (8,68%); *Acremonium* sp., three (6,5%); *Exophiala* sp., three (6,5%); *Paecilomyces* sp., two (4,34%); *Trichosporon* sp., dois (4,34%), and one *Geotrichum* sp. (2,17%).

**Key words:** *Felis catus*. Fungal identification. Claws.

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Na imagem do lado esquerdo pode-se observar o <i>Sporothrix schenckii</i> , quando cultivado em ágar dextrose de batata (SDA), em temperatura de 25-30°C. Observa-se conidióforo verticilado, com conídios alongados e em suas extremidades afilados, com aspecto de “margarida”. Na imagem do lado direito, o <i>Sporothrix schenckii</i> quando submetido a temperaturas de 37° C no meio Ágar infusão cérebro-coração (BHI), observando a forma leveduriforme.	18
2	Pode-se observar as estruturas que compõem o fungo <i>Mucor</i> sp. e o <i>Rhizopus</i> sp. A diferença mais nítida entre as estruturas é a ausência dos rizoides observada no <i>Rhizopus</i> sp. e ausente no <i>Mucor</i> sp.	20
3	Pode-se observar que o <i>Penicillium</i> sp. apresenta conidióforos septados, septos não observados no <i>Aspergillus</i> sp., que por sua vez apresenta uma vesícula sustentando as fialides e os conídios.	21
4	Na imagem à esquerda, pode-se observar a presença de com conidióforos septados, conídios ovais e fialides localizadas em sua extremidade essas estruturas compõe o fungo do gênero <i>Pacilomyces</i> sp. e à direita a microscopia do fungo do gênero <i>Acremonium</i> sp.; conidióforos com hifas especializadas suportando os conídios.	22
5	Pode-se observar a presença de artroconídios – esporos que compõem o fungo do gênero <i>Geotrichum</i> sp	22
6	Na imagem do lado esquerdo pode-se observar a frutificação do tipo cladosporium, estruturas que compõem o fungo do gênero <i>Cladosporium</i> sp. Do lado direito está ilustrada a microscopia do fungo do genero <i>Exophiala</i> sp.; observam-se hifas septadas e conídios elípticos	24

- 7 Na imagem do lado esquerdo podem-se observar leveduras ovais e alongadas do gênero *Rhodotorula* sp. Do lado direito nota-se a presença de leveduras do gênero *Tricosporon* sp. 25
- 8 Técnica de *imprint* em Ágar Micobiótico Seletivo. Imagem A e B com antissepsia das garras (7 e 30 dias, respectivamente) e C e D sem antissepsia das garras (7 e 30 dias, respectivamente) É possível observar nas figuras, que mesmo após antissepsia, ainda há sobreposição das colônias em detrimento do crescimento fúngico exacerbado. 32
- 9 Técnica de *imprint* em Ágar Micobiótico Seletivo. Placas dos animais 033, 036 e 048, incubadas a 5, 7, 15 e 30 dias, respectivamente. Pode-se observar que a partir do 7º dia o isolamento fúngico encontra-se comprometido em decorrência do crescimento fúngico exacerbado. 33
- 10 Técnica de espalhamento em Ágar Micobiótico Seletivo. Placas dos animais 019, 028 e 025, incubadas a 5, 7, 15 e 30 dias, respectivamente. Com a técnica de espalhamento, pode-se observar que as colônias se mostram mais dispersas, viabilizando o isolamento das colônias e posterior identificação fúngica. 34
- 11 Macroscopia da colônia (A) (seta azul – pode-se observar a presença da colônia algodonosa “branca” em toda a placa de Petri) pela técnica de espalhamento e microscopia (B) do fungo do gênero *Mucor* sp., aumento de 40x. 34
- 12 Macroscopiada colônia(A) e microscopia (B) da levedura *Rhodotorulasp*, no aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 35
- 13 Macroscopia da colônia (A) e microscopia (B) do fungo do gênero *Aspergillus* sp., no aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 35
- 14 Macroscopia da colônia (A) e microscopia (B) do fungo do gênero *Fusarium* sp., no aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 36

- 15 Macroscopia da colônia (A) e microscopia (B) do gênero *Penicillium* sp., no aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 36
- 16 Macroscopia da colônia (A) e microscopia (B) do gênero *Trichoderma* sp. no aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 37
- 17 Macroscopia da colônia (A) e microscopia (B) do gênero *Cladosporium* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 37
- 18 Macroscopia da colônia (A) e microscopia (B) do gênero *Rhizopus* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 38
- 19 Macroscopia da colônia (A) e microscopia (B) do gênero *Acremonium* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 38
- 20 Macroscopia da colônia (A) e microscopia (B) do gênero *Exophiala* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 39
- 21 Macroscopia da colônia (A) e microscopia (B) do gênero *Paecilomyces* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 39
- 22 Macroscopia da colônia (A – pode-se observar colônia esbranquiçada indica pela seta azul) e microscopia (B) do gênero *Trichosporon* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 40
- 23 Macroscopia da colônia (A) e microscopia (B) do gênero *Geotrichum* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. 40

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2.OBJETIVOS .....	14
2.1 Gerais .....	14
2.2 Específicos .....	14
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	15
3.1 Gatos como veiculadores de doenças fúngicas .....	15
3.2 Esporotricose .....	16
3.3 Zigomicoses sistêmicas .....	18
3.4 Hialohifomicoses .....	20
3.5 Feohifomicoses .....	23
3.6 Outras micoses oportunistas .....	24
3.7 Epidemiologia .....	25
3.8 Diagnóstico .....	26
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	27
4.1 Área de estudo .....	27
4.2 Cálculo Amostral .....	27
4.3 Animais .....	28
4.4 Coleta das amostras .....	28
4.5 Cultivo de fungos através da técnica de <i>imprint</i> das garras .....	29
4.6 Cultivo de fungos através da técnica de espalhamento .....	29
4.7 Isolamento e identificação fúngica .....	30
5. RESULTADOS .....	31
6. DISCUSSÃO .....	41
7. CONCLUSÃO .....	44
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	45

<b>ANEXO 1 .....</b>	<b>53</b>
<b>ANEXO 2 .....</b>	<b>54</b>
<b>ANEXO 3 .....</b>	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A ocorrência de zoonoses e sua transmissão para a população humana têm sido cada vez mais comuns. Associado a esse fator, um número crescente de cães e gatos convive intimamente com os seres humanos. Assim, o compartilhamento do nicho urbano tem despertado o interesse e a necessidade de investigações acerca da ligação entre seres humanos, animais domésticos e a transmissão de doenças (FARIAS et al., 2011). Os gatos, por sua vez, possuem um importante papel na disseminação de zoonoses através da arranhadura ou contato direto, dentre as quais podemos destacar a esporotricose (LARSSON, 2011).

Os quadros dermatológicos de etiologia fúngica são cada vez mais recorrentes na rotina da clínica médica de pequenos animais (SCOTT et al., 2001), demonstrando a importância do levantamento de dados acerca dos fungos mais frequentemente observados nas garras dos felinos, uma vez que uma das principais doenças de carácter zoonótico, como a esporotricose, é transmitida também pela arranhadura de gatos, que albergam em suas garras o agente (ANDRADE, 2002). Além disso, é importante destacar que nem todos os animais veiculadores da doença apresentam sinais clínicos (LARSSON, 2011).

Sabe-se que diversos fungos estão presentes no tegumento e pelagem dos felinos, muitos dos quais são saprófitas e fazem parte da microbiota. Dentre eles podemos citar o *Cladosporium Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp. e *Rhodotorula* sp. como os fungos mais comumente isolados dos gatos (MORIELLO; DeBOER, 1991; GAMBALE et al., 1993; CABAÑES, 2000; SCOTT et al., 2001; PAIXÃO et al., 2001). Dentre esses fungos, o *Cladosporium* sp., *Exophiala* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp., *Fusarium* sp., *Paecilomyces* sp. e *Penicillium* sp. podem promover na população humana o desenvolvimento de micoses sistêmicas oportunistas, que tem importância clínica em humanos, principalmente em pacientes com comprometimento imunológico (CAREY, 2003).

Adicionalmente, apesar da microrregião de Ilhéus-Itabuna não ser endêmica para a esporotricose, apresenta clima propício para o desenvolvimento do agente fúngico. Assim sendo, é de interesse para a saúde pública determinar a prevalência da doença na região e o estabelecimento de técnicas laboratoriais viáveis para o isolamento e identificação dos agentes fúngicos prevalentes nas garras dos felinos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Comparar as técnicas de *imprint* e espalhamento para o isolamento das colônias e identificação de fungos patogênicos e não-patogênicos presentes nas garras dos felinos semidomiciliados da microrregião de Ilhéus e Itabuna, do estado da Bahia, e determinar, através dessas técnicas, a população fúngica presente nas garras dos gatos.

### 2.2 Objetivos Específicos

- (I) Determinar a viabilidade da técnica de *imprint* na identificação de fungos que albergam as garras dos felinos
- (II) Determinar a viabilidade da técnica de espalhamento na identificação de fungos que albergam as garras dos felinos
- (III) Determinar a prevalência fúngica nas garras dos felinos semidomiciliados da microrregião de Ilhéus e Itabuna, do estado da Bahia.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Gatos como veiculadores de doenças fúngicas

As doenças zoonóticas são cada vez mais comuns, apesar da grande evolução científica e tecnológica para o controle dessas enfermidades (ARMELIN; CUNHA, 2016). O aumento da incidência das zoonoses se deve em grande parte ao número crescente da população de cães e gatos convivendo intimamente com a população humana (FARIAS et al., 2011).

A população dos gatos tem crescido substancialmente ao longo dos anos e esses animais, por sua vez, possuem um importante papel na disseminação de doenças através da arranhadura. Dentre estas podemos destacar a esporotricose, já que essa espécie é um importante reservatório da doença, sendo uma potencial fonte de infecção para o ser humano e outros gatos saudáveis. Hábitos inatos, tais como, escavar e encobrir os dejetos com a terra e a afiação ungueal dos felinos em troncos de árvores ou vegetais são importantes fatores para a manutenção do agente nas unhas ou dígitos dos animais assintomáticos (LARSSON, 2011).

Alguns fungos sabidamente presentes nas garras dos felinos podem apresentar importância clínica para a população humana quando entram em contato com pacientes imunossuprimidos, tais como: *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Exophiala* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp., *Mucor* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Rhodotorula* sp. e *Trichosporon* sp. (MARR et al., 2002; KOZAK et al., 2003; LOSS et al., 2011; VASCONSCÉLOS et al., 2013;).

As micoses sistêmicas oportunistas são enfermidades fúngicas que acometem pessoas e animais imunocomprometidos, ocorrendo secundárias a outras doenças, especialmente em pacientes portadores de câncer em estágio avançado, indivíduos submetidos a transplantes ou procedimentos quimioterápicos, além do uso de imunossupressores. Em gatos há relatos de

infecções fúngicas oportunistas em animais portadores do Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) e leucemia felina (FeLV) (CASTRO et.al., 2017).

### 3.2 Esporotricose

A esporotricose é uma doença infecciosa micótica granulomatosa crônica, causada por um fungo pertencente à Família Ophiostomataceae, Ordem Ophiostomatales, Subclasse Euascomycetes, Divisão Ascomycota, gênero *Sporothrix* spp. Os fungos patogênicos pertencentes a esse gênero são dimórficos quando estão na forma parasitária ou em cultivos fúngicos a 37°C; crescem como levedura, apresentando uma forma “em charuto” ou arredondada. (Imagem 1) À temperatura ambiente, por sua vez, apresentam crescimento micelial (OLIVEIRA et al., 2011).

A esporotricose atinge o homem e diversas espécies de animais (ROSA et al., 2005), sendo dividida didaticamente em três formas principais: doença cutânea, cutaneolinfática e disseminada, sendo a forma cutaneolinfática a mais comumente observada nos felinos domésticos, com disseminação observada em mais de 50% dos casos (TABOADA, 2004). Os sinais clínicos comumente observados são lesões ulceradas na pele, com evolução rápida e produção de secreção. Essas lesões não cicatrizam (LARSSON, 2011). Dessa forma, esse tipo de manifestação é a mais frequente nos seres humanos, chegando a 80% dos casos, tendo como início uma lesão nodular ou ulcerativa no local da inoculação do fungo (MARIMON, 2007).

A ocorrência de esporotricose em animais, especialmente gatos, e sua transmissão para humanos têm sido descritas em diversos países, sendo que no estado do Rio de Janeiro a doença assumiu proporções epidêmicas (BARROS et al., 2010). Ainda, segundo Cruz (2013), a potencialidade zoonótica da esporotricose felina se tornou reconhecida a partir da década de 80, quando a doença em seres humanos foi pela primeira vez associada ao contato com gatos infectados, demonstrando a importância desses animais na disseminação da doença de forma zoonótica.

A esporotricose é uma doença adquirida pela implantação de forma traumática do fungo no tecido subcutâneo, pelo contato com qualquer material que esteja contaminado pelo fungo. A forma mais provável de disseminação desta micose entre os gatos é através da transmissão pelo contato entre animais sadios e infectados. (CRUZ, 2013).

O diagnóstico considerado padrão-ouro consiste no cultivo em meios de cultura e posterior identificação do agente. Os meios de cultura preconizados são o ágar de infusão de cérebro e coração, ágar sangue (37°C) e ágar Sabouraud (CARTER, 1988). O crescimento do microrganismo pode ser observado em aproximadamente 3 a 5 dias, podendo após esse período serem avaliados (KWON-CHUNG & BENNET, 1992; LACERDA et. al., 1999). Os meios podem ainda ser acrescidos de cloranfenicol e cicloheximida (CRUZ, 2010). As amostras utilizadas podem ser obtidas a partir de biopsia de pele, fragmentos ungueais, sangue ou coágulos provenientes das fezes, material da cavidade oral e nasal (SCHUBACH, 2004). Microscopicamente o *Sporothrix schenckii* quando cultivado em meios de cultura, apresenta dimorfismo térmico. Em temperaturas entre 25-30°C, podem-se observar hifas septadas, conidióforo verticilado, com conídios alongados e em suas extremidades afilados, apresentando aspecto de “margarida”.

O tratamento consiste no uso de drogas antifúngicas, sendo o itraconazolo fármaco de eleição, na dose de 50mg/animal ou 10 a 20mg/kg, uma vez ao dia, sendo recomendada a administração da medicação juntamente com o alimento (VIANA, 2014).

Em um estudo realizado por Junior et al. (2012), estimou-se que 35,02% das doenças que acometeram cães (20,02%) e gatos (15%) foram enfermidades tegumentares e, dentre os quadros dermatológicos com etiologia fúngica, destacou-se a esporotricose. Esses resultados demonstram a importância do controle sanitário, manejo adequado e visitas periódicas ao médico veterinário para o controle dessas doenças (JUNIOR et al., 2012).

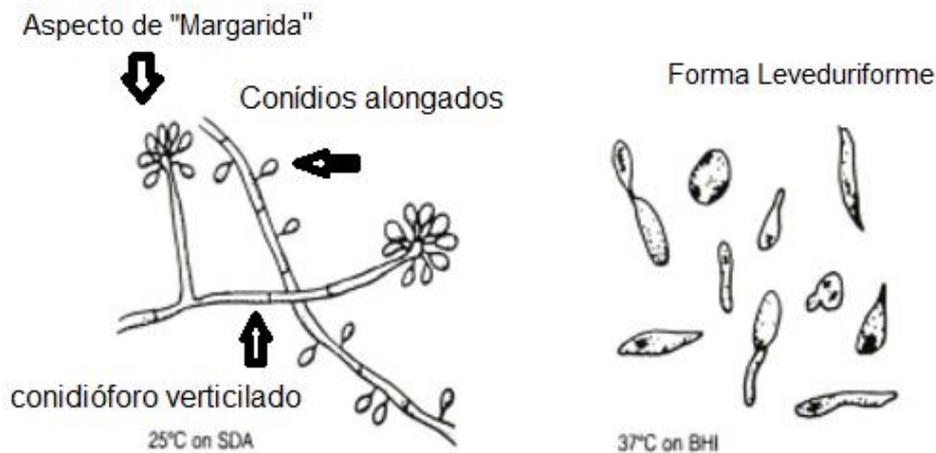


Imagem 1: Na imagem do lado esquerdo pode-se observar o *Sporothrix schenckii*, quando cultivado em ágar dextrose de batata (SDA), em temperatura de 25-30°C. Observa-se conidióforo verticilado, com conídios alongados e em suas extremidades afilados, *com aspecto de "margarida"*. Na imagem do lado direito, o *Sporothrix schenckii* quando submetido a temperaturas de 37° C no meio Ágar infusão cérebro-coração (BHI), observando a forma leveduriforme. Fonte: ALMEIDA, 1988.

### 3.3 Zigomicoses sistêmicas

As zigomicoses englobam doenças causadas por um grande número de fungos pertencentes ao grupo dos zigomicetos (MEIRELLES; NASCENTE, 2009), primitivos, que se alimentam de matéria orgânica em decomposição, possuindo rápido crescimento. Esse fungo é cosmopolita, possui baixa virulência, mas pode acometer tanto animais quanto humanos. Esse grupo engloba fungos como o *Mucor* sp. e *Rhizopus* sp., capazes de promover alterações subcutâneas e/ou sistêmicas (MARQUES et al., 2010; MOHANTY et al., 2010).

Na população humana, esses gêneros acometem majoritariamente a região rino-facial-craniana, pulmões, trato gastrointestinal, pele e menos comumente outros órgãos (MARQUES et al., 2010; MOHANTY et al., 2010). Os indivíduos imunocomprometidos são mais suscetíveis, nos quais a doença apresenta um curso agudo e fulminante, uma vez que o fungo infectante tem

grande afinidade pelos vasos sanguíneos arteriais. Dessa forma, predispõe ao desenvolvimento de êmbolos, seguido de necrose tecidual, com comprometimento do aporte sanguíneo, sendo extremamente importante o rápido diagnóstico e intervenção terapêutica (PRABHU; PATEL, 2004; MARQUES et al., 2010).

O desenvolvimento da zigomicose cutânea se dá através da implantação traumática do agente na pele. Pacientes humanos diabéticos ou com queimaduras extensas são mais suscetíveis ao desenvolvimento da doença. As lesões caracterizam-se como placas, pústulas, ulcerações, abscessos profundos e manchas necróticas irregulares que podem levar ao óbito (OLIVEIRA, 2014).

Nos gatos, por sua vez, o desenvolvimento da doença pode estar atrelado à exposição a uma grande quantidade do agente (GINN et al., 2007). Nos felinos esses fungos podem acometer o trato respiratório, digestório e tecido cutâneo, através da implantação dos mesmos, seja por traumas ou por contato com lesões preexistentes (GROOTERS, 2003; SILVA et al., 2007).

O exame direto ou histopatológico possibilita a identificação do agente fúngico, podendo-se observar na cultura a colônia filamentosa algodonosa preenchendo o interior do tubo e com grãos negros na parte superior, no caso do *Rhizopus* sp. Microscopicamente observam-se rizóides, hifa contínua e esporângio. O *Mucor* sp., por sua vez, apresenta colônia de crescimento rápido, com coloração variando do branco ao cinza e, microscopicamente apresentam hifas não septadas e esporangióforos simples ou ramificados, formando esporângios globulares apicais suportados e elevados por uma columela (Imagem 2). Esse gênero não apresenta rizoides, uma das características que permite diferenciar o *Mucor* sp. do *Rhizopus* sp. (ALEXOPOULOS; MIMIS; BLACKWELL, 1996; BONONI, 1998).

O tratamento consiste em verificar se há problema de base e no uso da anfotericina B (OLIVEIRA, 2014).

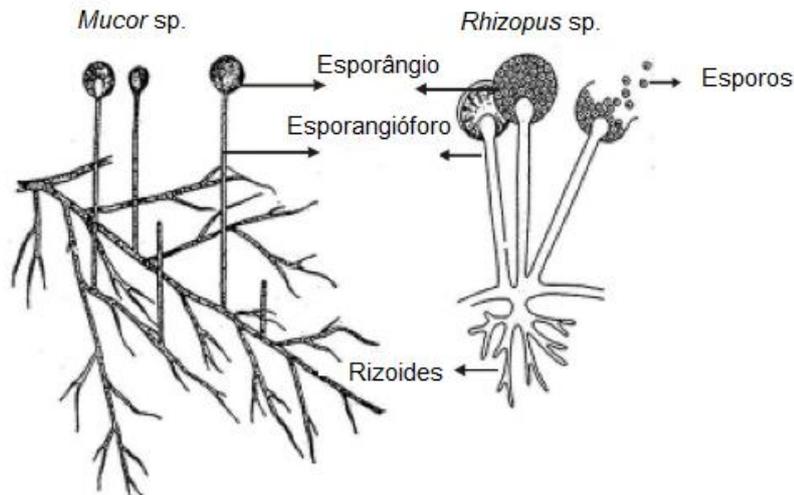


Imagem 2: Pode-se observar as estruturas que compõem o fungo *Mucor* sp. e o *Rhizopus* sp. A diferença mais nítida entre as estruturas é a ausência dos rizoides observada no *Rhizopus* sp. e ausente no *Mucor* sp. Fonte: LEVY, 2004.

### 3.4 Hialohifomicoses

Os fungos *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., e *Geotrichum* sp. pertencem a um grupo das hialohifomicoses, termo utilizado para agrupar infecções causadas por patógenos fúngicos hialinos (CORDEIRO, 2004).

Estes fungos tem poder patogênico limitado (CORDEIRO, 2004). As manifestações clínicas desencadeadas são inúmeras, variando desde a colonização saprofítica inofensiva à doença invasiva aguda (OLIVEIRA, 2014). As acremonioses podem levar ao desenvolvimento de diversos tipos de lesões cutâneas, dentre elas lesões ulceradas, nodulares, micetomas em pacientes humanos (LACAZ et al., 2002). Essas enfermidades podem ocorrer através da inoculação e colonização do fungo em tecido cutâneo; podem se apresentar no pulmão e em outros órgãos como doença invasiva, inflamatória e granulomatosa.

O diagnóstico laboratorial pode ser realizado através do exame direto, histopatológico ou cultivo em Ágar Sabouraud. Na cultura observam-se colônias típicas de cada gênero isolado. A morfologia varia de acordo com cada espécie, observando-se um padrão de desenvolvimento dos conidióforos e cor dos conídios formados (PILANIYA et al., 2015). Microscopicamente pode-se observar conidióforo sem vesícula, como é o caso do *Penicillium* sp.; ou conídio em meia lua ou foice com septos transversais, característica do *Fusarium* sp. (Imagem 3). O tratamento deve ser realizado com o uso de anfotericina B e cirurgia (SIDRIM et al., 2004). O *Acremonium* sp., por sua vez, dá origem a hifas septadas e hialinas, também pode-se observar conidióforos com conídios eretos ou ovais aglomerados nas extremidades dos conidióforos (Imagem 4). O *Paecilomyces* sp. (Imagem 4) possui conidióforo ramificado no topo com fiálides longas (FAIA, 2011), enquanto que o *Geotrichum* sp. (Imagem 5) apresenta hifas septadas hialinas e artroconídios (SIDRIM, 2004).

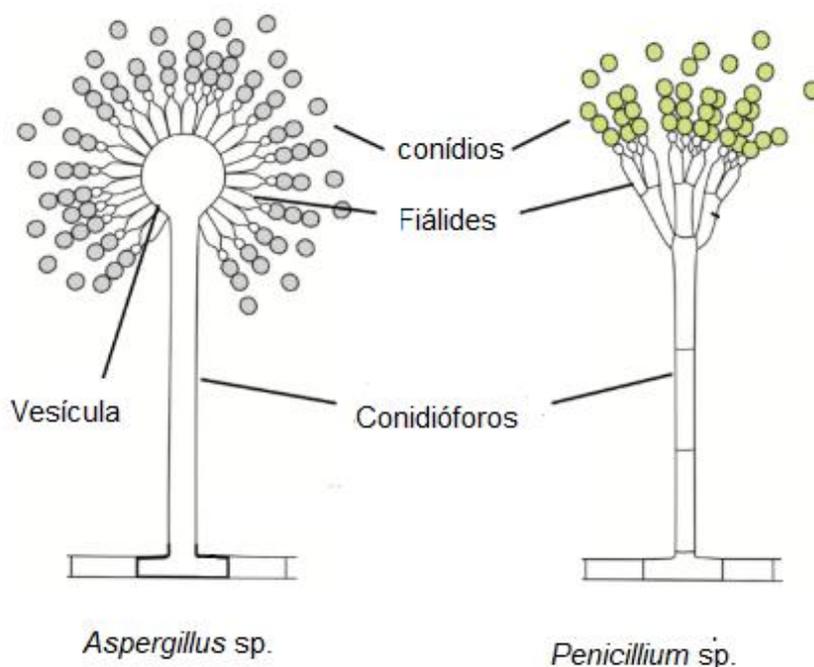


Imagem 3: Pode-se observar que o *Penicillium* sp. apresenta conidióforos septados, septos não observados no *Aspergillus* sp., que por sua vez apresenta uma vesícula sustentando as fiálides e os conídios. Fonte: MACRAE, 1993.

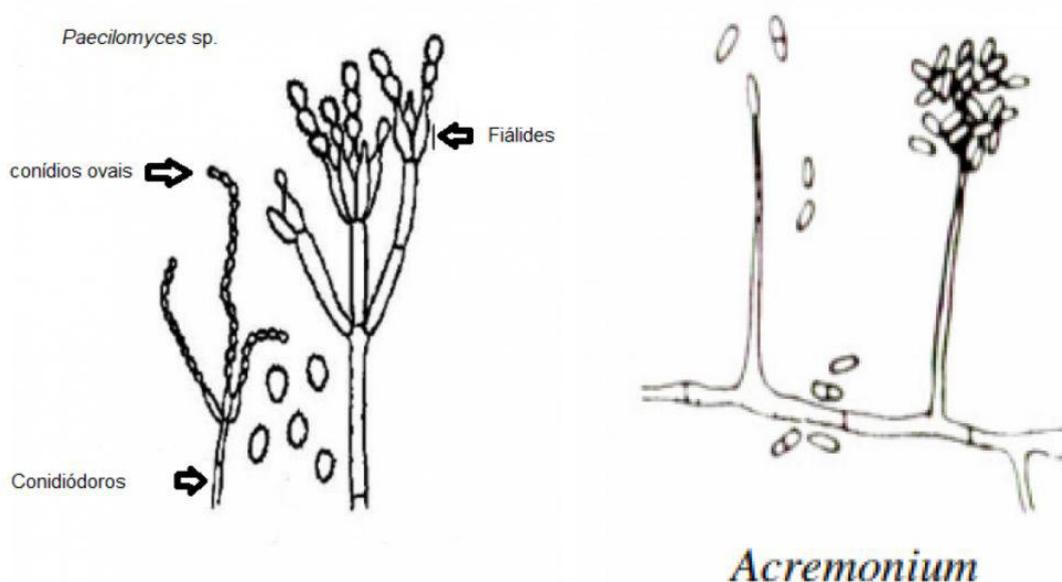


Imagem 4: Na imagem do lado esquerdo pode-se observar a presença de conidióforos septados, conídios ovais e fialides localizadas em sua extremidade. Essas estruturas compõem o fungo do gênero *Paecilomyces* sp. Do lado direito a microscopia do fungo do gênero *Acremonium* sp.; conidióforos com hifas especializadas suportando os conídios. Fonte: KOZAKIEWICZ, 1989.

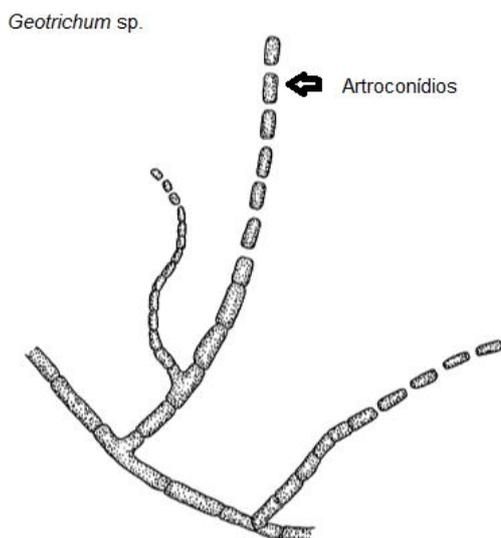


Imagem 5: Pode-se observar a presença de arthroconídios – esporos que, compõem o fungo do gênero *Geotrichum* sp. Fonte: MACRAE, 1993.

### 3.5 Feohifomicoses

Os fungos dos gêneros *Cladosporium* sp.e *Exophiala* sp.(Imagem 6) pertencem ao grupo das feohifomicoses. Esse grupo abrange uma infinidade de outros fungos que apresentam como uma de suas principais características a presença de um pigmento na parede celular de suas estruturas, responsável por seu fator de patogenicidade.

Essas infecções são raras tanto em animais quanto em humanos, acometendo principalmente indivíduos imunocomprometidos (FERREIRO et al., 2007).Na população humana pode promover infecções cutâneas superficiais, formação de cistos ou desenvolvimento de alterações no sistema nervoso central (OLIVEIRA, 2014). As manifestações cutâneas apresentam-se como verrugas, cujo desenvolvimento está associado à inoculação traumática do fungo no tecido cutâneo.

Na população felina o desenvolvimento dessa patologia está associado ao uso de corticoides por longos períodos; também se observaram casos associados ao carcinoma de células escamosas (FERREIRO et al., 2007).Nos animais domésticos podem-se observar alterações cutâneas, subcutâneas, nasal, sistêmica e cerebral. Associado à arranhadura está o desenvolvimento, principalmente, da forma nasal entre os felinos. Dentre todas essas manifestações clínicas, a mais comumente observada é a cutânea/subcutânea, assim como na população humana (McKAY et al.,2001; MARIANI et al., 2002;TENNANT et al., 2004;).

O diagnóstico pode ser realizado através do exame direto, histopatológico ou cultura de colônias enegrecidas. Através da microscopia são observadas estruturas reprodutivas típicas de cada espécie (FERREIRO et al., 2007).

O tratamento depende do estado geral do paciente, e pode ser realizado exclusivamente através de remoção cirúrgica ou em associação ao uso oral de antifúngicos (FERREIRO et al., 2007; OLIVEIRA, 2014).

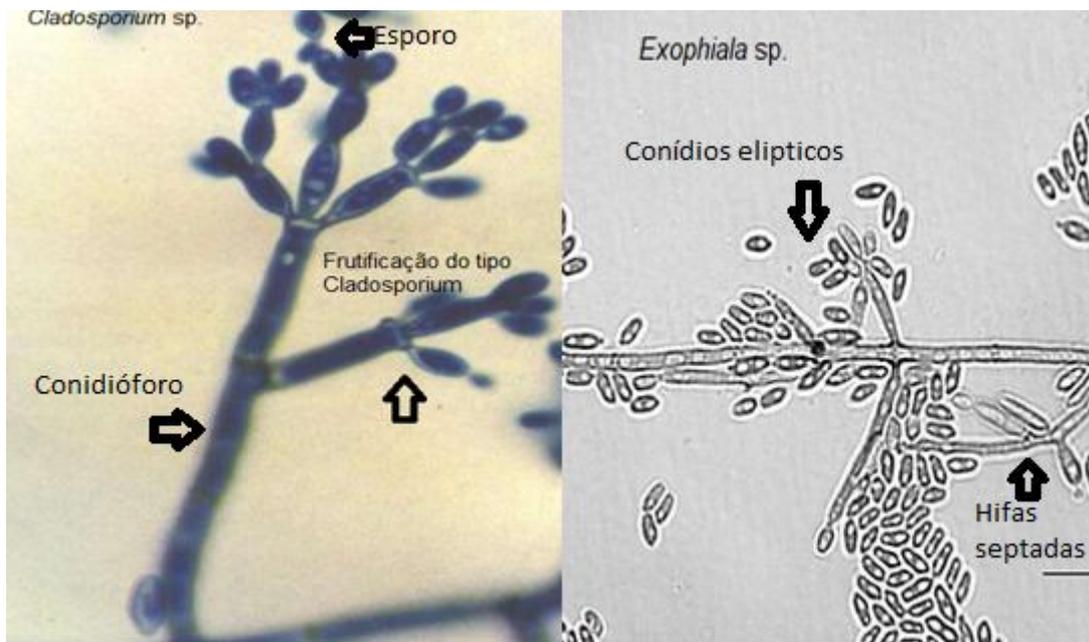


Imagem 6: Na imagem do lado esquerdo pode-se observar a frutificação do tipo cladosporium, estruturas que compõem o fungo do gênero *Cladosporium* sp. Do lado direito está ilustrada a microscopia do fungo do genero *Exophiala* sp.; observam-se hifas septadas e conídios elípticos. Fonte: NYAOKÉ, 2009; BARRON, 2013.

### 3.6 Outras micoses oportunistas

O *Rhodotorula* spp. (Imagem 7) já foi considerado apenas contaminante de amostras, no entanto, tem surgido relatos envolvendo esse fungo saprófita e o desenvolvimento de meningite, endocardites e fungemias em pacientes humanos, tendo sido observada a presença do mesmo em catéteres utilizados por pacientes imunossuprimidos (GOMEZ-LOPEZ et al., 2005). Segundo Mattei (2010) não há, até o momento, relatos de enfermidades acometendo gatos cujo agente causador seja a *Rhodotorula* spp.

O *Tricosporon* spp. (Imagem 7), em contrapartida, é descrito envolvendo pacientes humanos submetidos à quimioterapia. Os sinais clínicos observados são endocardites, ceratite e nódulos brancos pouco aderentes ao pêlo

(LACAZ et al., 2002;SIDRIM et al., 2004; GOMPERTZ et al., 2005; KENDIRLI et al., 2005; LACASSE et al., 2009). Nos gatos, por sua vez, Doster et al. (1987) descreveram o acometimento de um felino que desenvolveu dermatite granulomatosa, concomitante com linfossarcoma linfoblástico disseminado e outro felino que foi diagnosticada cistite urinária causada por *T. beigeli*. O diagnóstico pode ser realizado através de urocultura, cultura fúngica, de acordo com as lesões e órgãos acometidos pelos agentes.

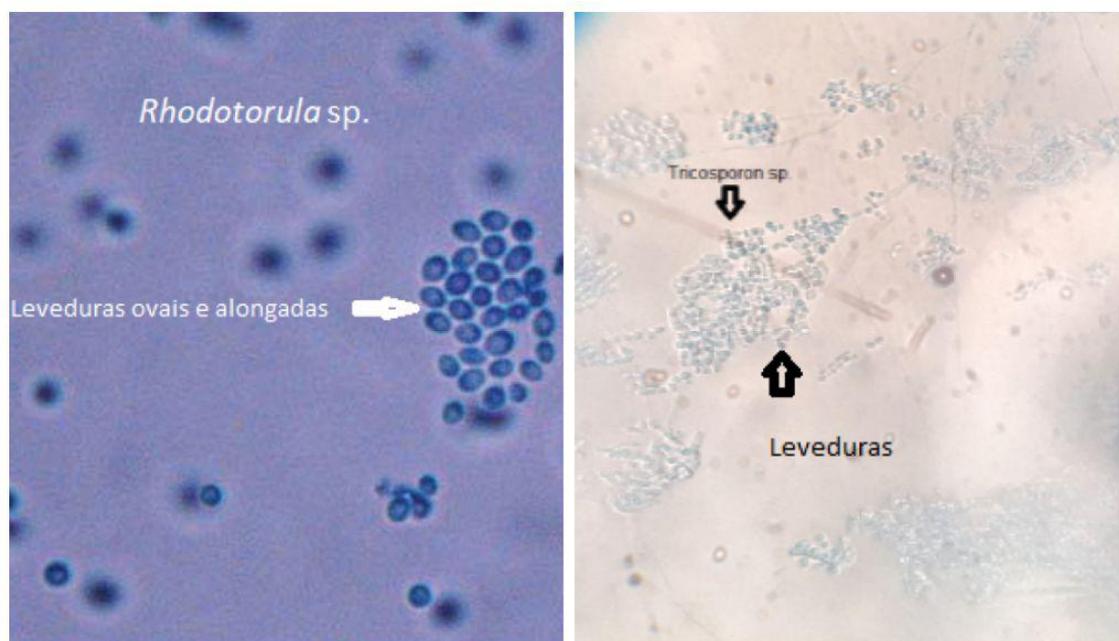


Imagem 7: Na imagem do lado esquerdo podem-se observar leveduras ovais e alongadas do gênero *Rhodotorula* sp. Do lado direito nota-se a presença de leveduras do gênero *Tricosporon* sp. Fonte: BONIFAZ, 2012; Arquivo Pessoal.

### 3.7 Epidemiologia

A transmissão da esporotricose dos felinos para a população humana já foi relatada em 1990 no Rio de Janeiro, sudeste do Brasil, sendo as donas de casa de meia-idade, seguidas por aposentados e estudantes, os indivíduos

mais afetados. No Nordeste, por sua vez, foram relatados casos de esporotricose felina no estado de Pernambuco, tendo sido registrado um caso na cidade de Bezerros, agreste do Pernambuco (ARAUJO et al., 2016); e um surto na região metropolitana do Recife, onde 59 casos foram confirmados (SILVA et al., 2018). Além disso, no município de Itaporanga, estado da Paraíba, também foi confirmado um caso (NUNES et al., 2011).

Os fungos saprófitos podem ser encontrados em diversos ambientes, até mesmo no ar, podendo ser isoladas a partir de diferentes tipos de habitat, incluindo o solo, alimentos contaminados, o homem e animais domésticos. (SIDRIM, ROCHA, 2004). Em um estudo, realizado na cidade de Fortaleza, isolou-se fungos saprófitos, como *Rhizopus* sp, *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. Apesar do isolamento desses fungos saprofitas ocorrerem através da contaminação ambiental, foi considerado importante analisar a participação destes, como agentes causadores da infecção cutânea animais domésticos (PAIXÃO et al., 2001).

### 3.8 Diagnóstico

As doenças causadas por fungos muitas vezes não apresentam alterações clínicas patognômicas, sendo necessário que as amostras coletadas sejam submetidas ao exame micológico, técnica padrão-ouro (LIMA et al., 1977).

Segundo estudos realizados por Almeida et al., (1988) foi possível o isolamento fúngico utilizando meios de cultura como o ágar-Sabouraud e ágar-soja, através do qual foi possível isolar 67 espécimes, sendo 64 fungos filamentosos (bolors) e três leveduras do ambiente, dentre os quais podemos citar o *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp. e *Trichoderma* sp.

Em (2013) Borges e colaboradores desenvolveram um estudo composto por 144 gatos domiciliados e semidomiciliados, no qual as garras dos membros

torácicos desses felinos foram “fincadas” em placas contendo o ágar Mycosel Mycobiotic e incubadas a 25°C durante 30 dias, sendo identificados através dessa técnica *Sporothrix* sp., *Malassezia pachydermatis*, *Penicillium* sp, *Aspergillus* sp., *Rhodotorula* sp., *Candida* sp., *Trichoderma* sp. e *Acremonium* sp.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Estadual de Santa Cruz, sob protocolo número 020/16 (ANEXO 1).

### 4.1 Área do estudo

O trabalho foi desenvolvido na microrregião Ilhéus-Itabuna, localizada na região Sul da Bahia, com clima tropical úmido. Ilhéus: Latitude: 14° 47' 20" S, Longitude: 39° 02' 58" W e umidade de 78%; Itabuna: Latitude 14° 47' 08" S, Longitude: 39° 16' 49" W e umidade de 83%.

### 4.2 Cálculo Amostral

Para o cálculo amostral, utilizou-se o percentual de esporotricose em felinos do Estado do Rio de Janeiro, obtido através da análise das unhas de gatos saudáveis (29%) (SOUZA et al., 2006), devido à falta de estudo da epidemiologia dessa doença no Estado da Bahia (GUTIERREZ-GALHARDO et al., 2015).

Para o cálculo populacional de gatos utilizou-se a estimativa IBGE 2010 disponível em <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv94074.pdf>, que determinou que no Nordeste 23,6% dos domicílios possuem gatos. O IBGE

estima, ainda, que cada domicílio tenha três pessoas. Sendo assim, a média da população de Ilhéus e Itabuna pelo senso 2010 é de 194.451 pessoas, com 64.817 domicílios, possuindo a estimativa de 15.296 felinos.

Utilizou-se o Programa Sample size disponível na plataforma <http://sampsiz.sourceforge.net/iface/index.html>. com precisão de 8%, população estimada de gatos de 15.296, prevalência de 29% e nível de confiança de 95%, chegando-se à amostragem de 123 gatos.

### 4.3 Animais

Participaram desse estudo 150 felinos semidomiciliados residentes nos municípios supracitados. Esses animais foram provenientes de atendimentos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, centro de zoonoses e visitas domiciliares.

Após autorização por escrito dos tutores, os animais foram submetidos à anamnese, avaliação clínica e dermatológica (ANEXO 2), seguidos da coleta do material das garras dos membros anteriores. Para tal, os gatos foram contidos fisicamente conforme metodologia descrita por Souza (2003), através da qual eram enrolados em toalhas individuais para impedir movimentos bruscos ou contidos em saco de material sintético confeccionado especialmente para a imobilização.

### 4.4 Coleta das amostras

A coleta das amostras foi realizada por conveniência, no período compreendido entre maio de 2017 e novembro de 2018. Foi coletado material das garras dos membros torácicos, cuja escolha foi baseada na utilização desses nos movimentos de enterrar os excrementos, inerente aos felinos, determinando uma maior probabilidade de presença de fungos patogênicos.

#### 4.5 Cultivo de fungos através da técnica de *imprint* das garras

Para análise dessa técnica descrita por Borges e colaboradores (2013), foi coletado sujidades das garras dos membros torácicos de 100 animais. Os 100 gatos foram divididos em 2 grupos experimentais:

Grupo 1 (G1) - 50 gatos foram submetidos à antissepsia de todas as garras, com etanol a 70%.

Grupo 2 (G2) -50 gatos foram submetidos à antissepsia com etanol 70% apenas das garras de um dos membros torácicos.

A coleta foi semelhante para os dois grupos: para exposição das garras, os coxins dos membros torácicos eram pressionados cranialmente ao metacarpiano. Após a exposição e antissepsia das garras, já citadas anteriormente para cada grupo, os dígitos eram “fincados” em placas de Petri contendo o Ágar Micobiótico Seletivo (ANEXOIII, sendo utilizado uma placa para cada membro torácico.

Após a coleta das amostras, foi realizado o cultivo micológico, no qual as placas de Petri contendo o Ágar Micobiótico Seletivo eram inoculadas à temperatura de 25°C durante 30 dias, para a realização da análise micológica. As placas foram observadas com 5, 7, 15 e 30 dias após inoculação, para a avaliação do crescimento de colônias, para posterior identificação com base nas características macroscópicas e microscópicas. Para o G2, era também observado se a antissepsia reduziria a carga de colônias fungicas presente nas placas.

#### 4.6 Cultivo de fungos através da técnica de espalhamento

Após contenção física e exposição das garras dos membros torácicos, foram coletadas amostras de 50 gatos, através do uso de swab estéril, para

cultura micológica, utilizando um swab para cada pata dianteira. Esse swab era umedecido com caldo de infusão cérebro coração (BHI) (ANEXO 3) já anteriormente preparados em tubos de ensaio de vidro e em seguida friccionado três vezes em cada face da unha (parte cranial, dorsal, lateral direita e esquerda) e depois devolvido ao tubo contendo 2ml do caldo (solução 1), para posterior espalhamento em placas de Petri com os meios de cultura.

Logo após as coletas, os swabs foram retirados da solução BHI e 0,1ml do caldo BHI (solução 1) foi espalhado com alça de drigalski em uma placa contendo Ágar Micobiótico Seletivo. Foi utilizada uma placa por pata de cada gato. Total de 100 placas. Após a realização dessa etapa, os tubos de penicilina contendo o swab e o caldo BHI foram deixados em temperatura de 28°C.

Em até 24 horas após os tubos estarem em temperatura de 28°C, os swabs foram retirados da solução BHI e novamente, 0,1ml do caldo BHI foi espalhado com alça de drigalski em uma placa contendo Ágar Micobiótico Seletivo.

Após esse espalhamento, 0,25ml da solução 1 foi transferido para outro tubo contendo 2,25ml de solução fisiológica (solução 2). Essa solução foi homogeneizada e 0,1ml espalhado em uma placa contendo Ágar Micobiótico Seletivo, num total de 1 placa por garra, totalizando 100 placas.

Dessa forma, somando-se o número de placas das duas soluções, foram utilizadas quatro placas por animal, totalizando 200 placas.

#### 4.7 Isolamento e identificação fúngica

As placas contendo Ágar Micobiótico Seletivo foram utilizadas para o isolamento de colônias fungicas e posterior identificação dos fungos que apresentaram maiores índices no crescimento macroscópico e as colônias que apresentaram características semelhantes às descritas para *Sporothrix spp.*, no período de 30 dias.

As colônias filamentosas foram submetidas à técnica de microcultivo

para identificação dos fungos. Essa técnica foi realizada da seguinte forma: as colônias filamentosas foram transferidas para tubos contendo 5ml de Ágar Sabouraud (ANEXO 3) e dispostas em microcultivos com Ágar Dextrose de Batata (ANEXO 3). Essas foram incubadas em temperatura ambiente durante cinco dias e após esse período fragmentos das colônias que cresceram foram coletados e fixados sobre lâminas de microscopia, coradas com corante azul de algodão (Lactofenol) e observadas à microscopia óptica para identificação fúngica.

As colônias que apresentaram características macroscópicas semelhantes às descritas para os fungos do gênero *Sporothrix* spp., foram reinoculadas em ambiente estéril, contendo o Ágar infusão cérebro coração, sob a temperatura de 37°C, para confirmar o dimorfismo característico do fungo (SOUZA, et al. 2006).

## 5 RESULTADOS

A técnica de *imprint* realizada sob as condições desse experimento não se mostrou viável para isolamento e identificação das colônias, uma vez que ocorreu sobreposição das mesmas, impossibilitando seu isolamento e posterior identificação. Observou-se a partir da técnica de *imprint* que existe uma grande carga fúngica albergando as garras dos felinos e essa colonização promove o desenvolvimento de fungos de crescimento rápido e lento de forma ascendente e sobreposta, ainda que realizada a assepsia, impossibilitando a identificação dos fungos. As placas foram fotografadas após 5, 7, 15 e 30 dias de incubação, utilizando a técnica de antissepsia de apenas um dos membros torácicos (Imagens 8 e 9).

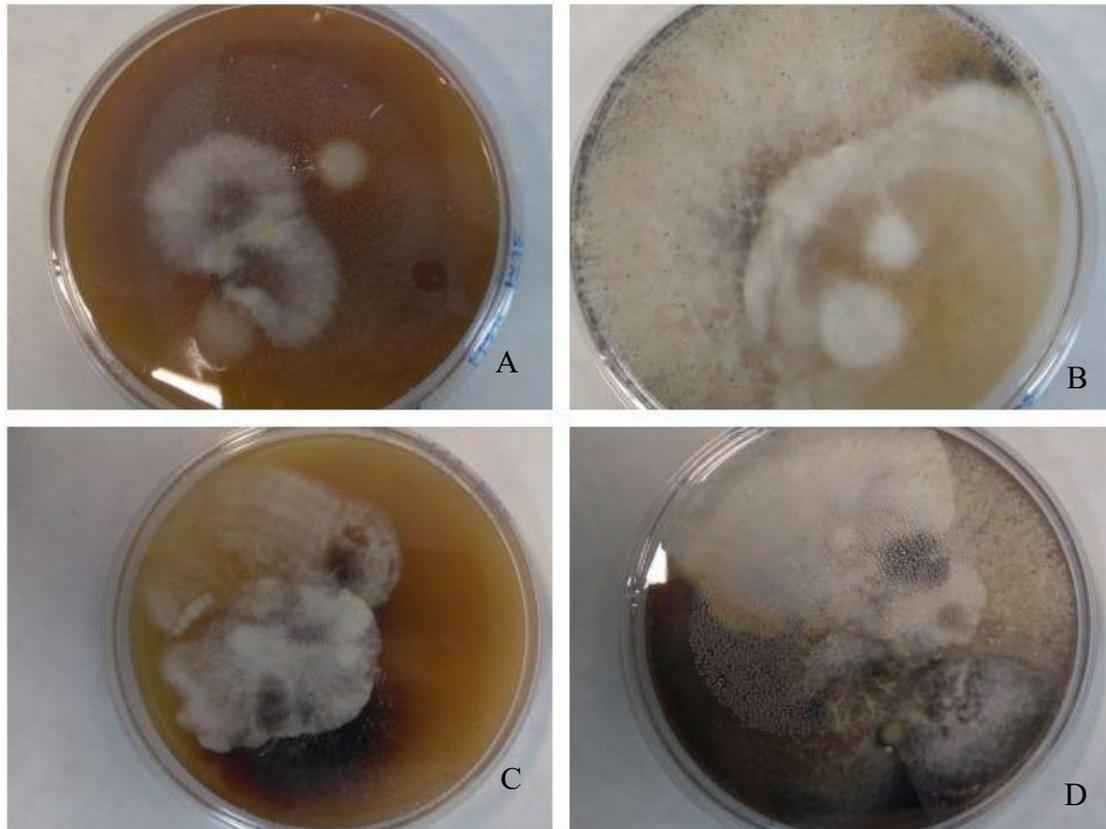


Imagem 8: Técnica de *imprint* em Ágar Micobiótico Seletivo. Imagem A e B com antissepsia das garras (7 e 30 dias, respectivamente) e C e D sem antissepsia das garras (7 e 30 dias, respectivamente). É possível observar nas figuras, que mesmo após antissepsia, ainda há sobreposição das colônias em detrimento do crescimento fúngico exacerbado. Fonte: Arquivo pessoal.

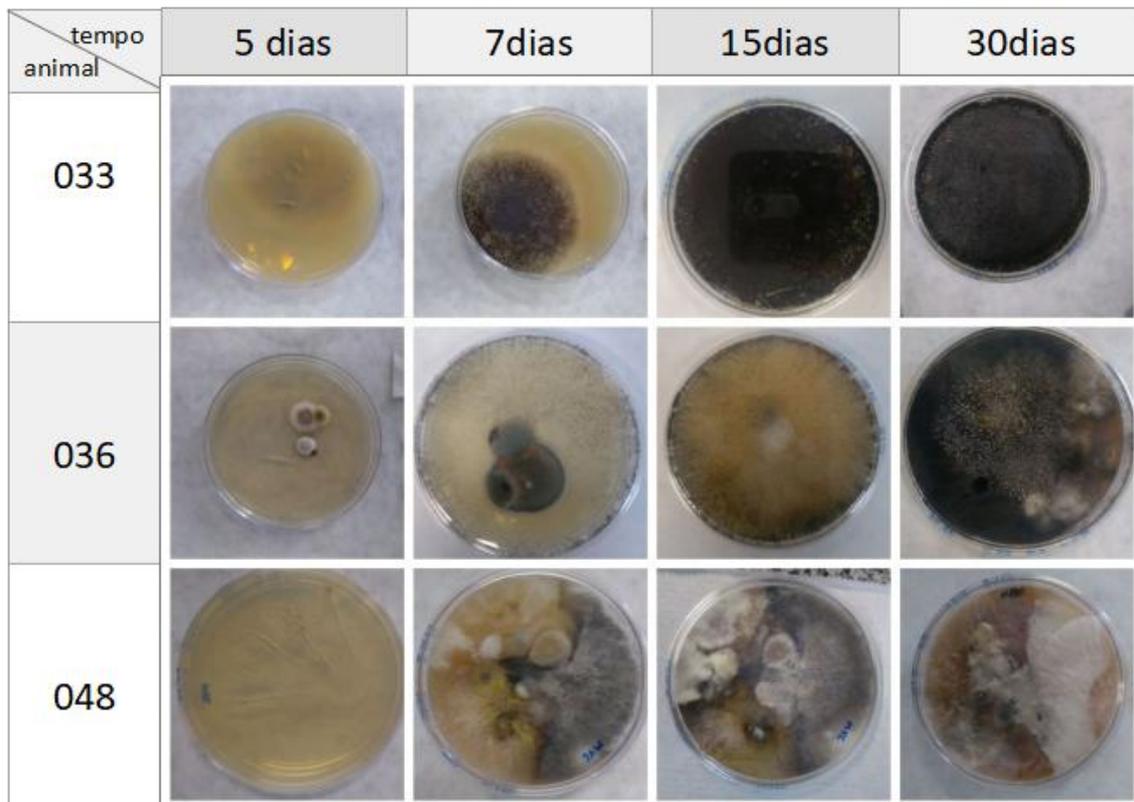


Imagem 9: Técnica de *imprint* em Ágar Micobiótico Seletivo. Placas dos animais 033, 036 e 048, incubadas a 5, 7, 15 e 30 dias, respectivamente. Pode-se observar que a partir do 7º dia o isolamento fúngico encontra-se comprometido em decorrência do crescimento fúngico exacerbado. Fonte: Arquivo Pessoal.

A partir da técnica de espalhamento, em 46 dos 50 gatos, as colônias cresceram de forma dispersa na placa, e foi possível isolar e identificar as seguintes colônias (Imagens 10 a 23): *Mucor* sp., 25 (54,34%); *Rhodotorula* sp. 13 (28,26%); *Fusarium* sp., 10 (21,73%); *Aspergillus* sp., 10 (21,73%); *Trichoderma* sp., nove (19,56%); *Penicillium* sp., nove (19,56%); *Cladosporium* sp., cinco (10,86%); *Rhizopus* sp., quatro (8,68%); *Acremonium* sp., três (6,5%); *Exophiala* sp., três (6,5%); *Paecilomyces* sp., dois (4,34%); *Trichosporon* sp., dois (4,34%). *Geotrichum* sp. um (2,17%); Não foram isoladas, nem identificadas colônias do gênero *Sporothrix* spp. Em quatro gatos avaliados não foi possível isolar e identificar as colônias presentes nas placas de Petri, em decorrência do crescimento exacerbado e sobreposição das colônias fúngicas.

É importante ressaltar que houve identificação de mais de uma colônia fúngica por gato.

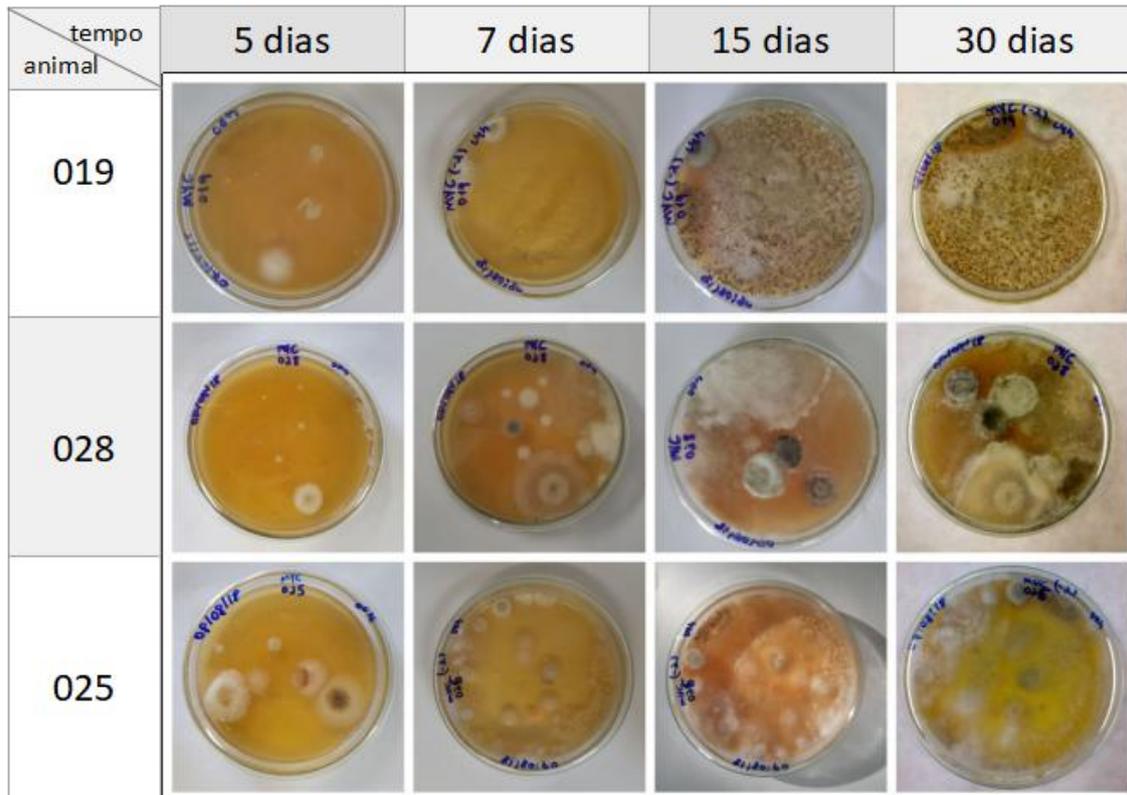


Imagem 10: Técnica de espalhamento em Ágar Micobiótico Seletivo. Placas dos animais 019, 028 e 025, incubadas a 5, 7, 15 e 30 dias, respectivamente. Com a técnica de espalhamento, pode-se observar que as colônias se mostram mais dispersas, viabilizando o isolamento das colônias e posterior identificação fúngica. Fonte: Arquivo Pessoal.



Imagem 11: Macroscopia da colônia (A) (seta azul – pode-se observar a presença da colônia algodonosa “branca” em toda a placa de Petri) pela técnica

de espalhamento e microscopia (B) do fungo do gênero *Mucor* sp., aumento de 40x. Fonte: Arquivo Pessoal.

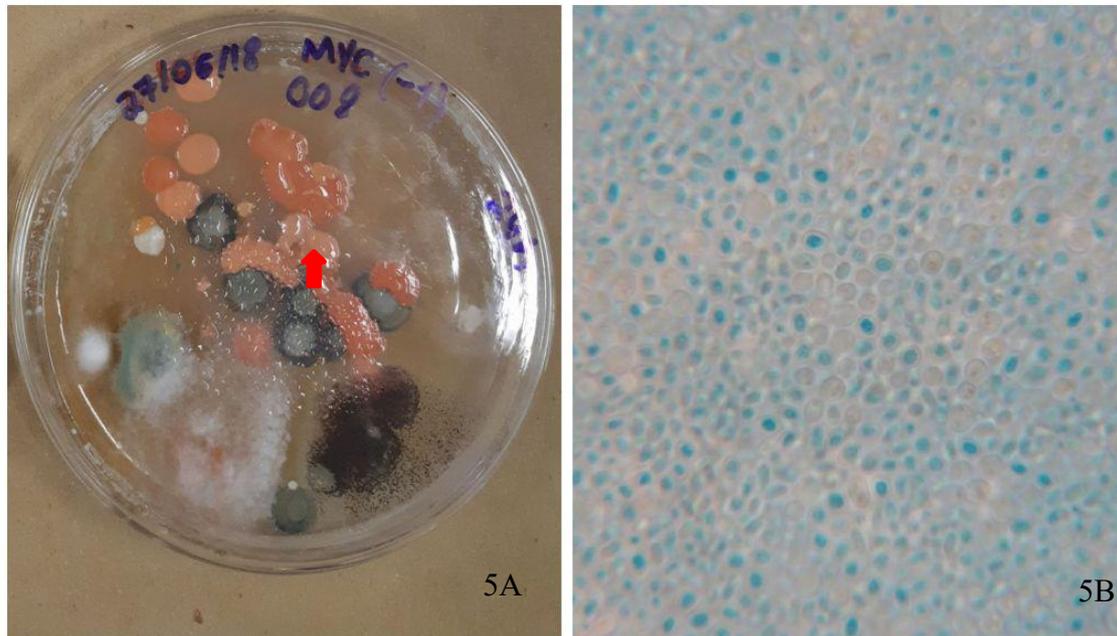


Imagem 12: Macroscopia da colônia (A) (seta vermelha) e microscopia (B) da levedura *Rhodotorula* sp, no aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

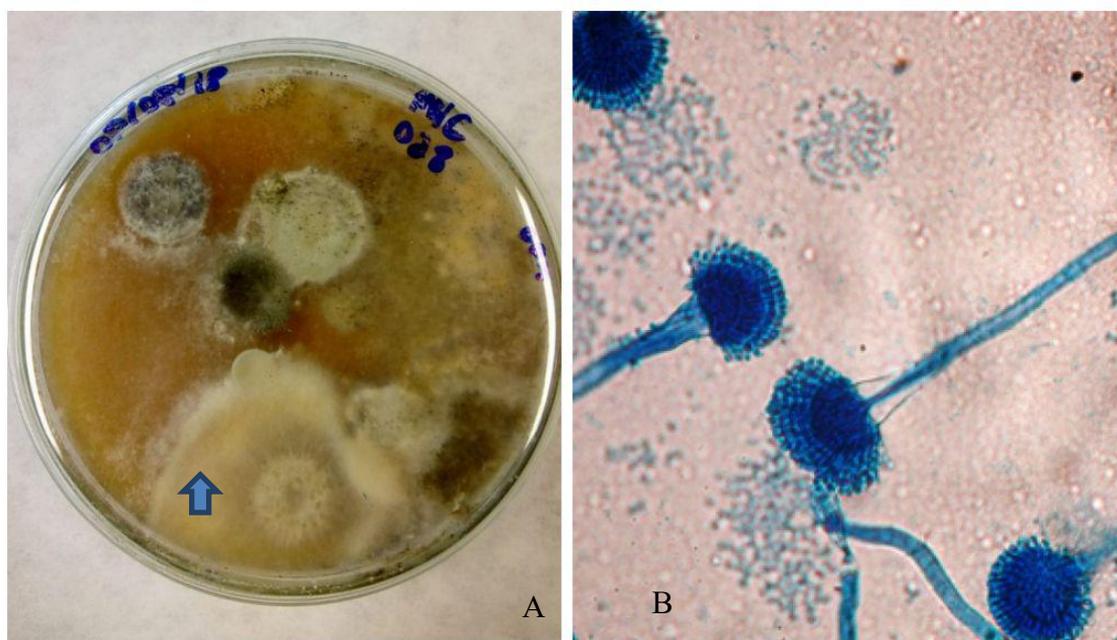


Imagem 13: Macroscopia da colônia (A)(seta azul) e microscopia (B) do fungo do gênero *Aspergillus* sp., no aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.



Imagem 14: Macroscopia da colônia (A) (seta azul) e microscopia (B) do fungo do gênero *Fusarium* sp., no aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

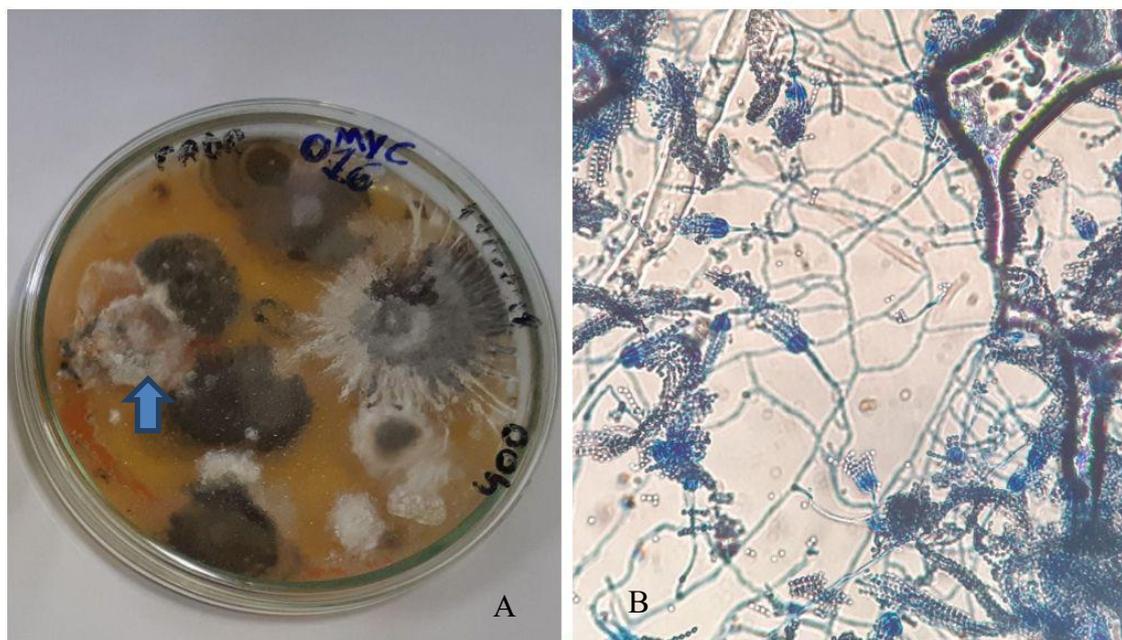


Imagem 15: Macroscopia da colônia (A) (seta azul) e microscopia (B) do gênero *Penicillium* sp., no aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

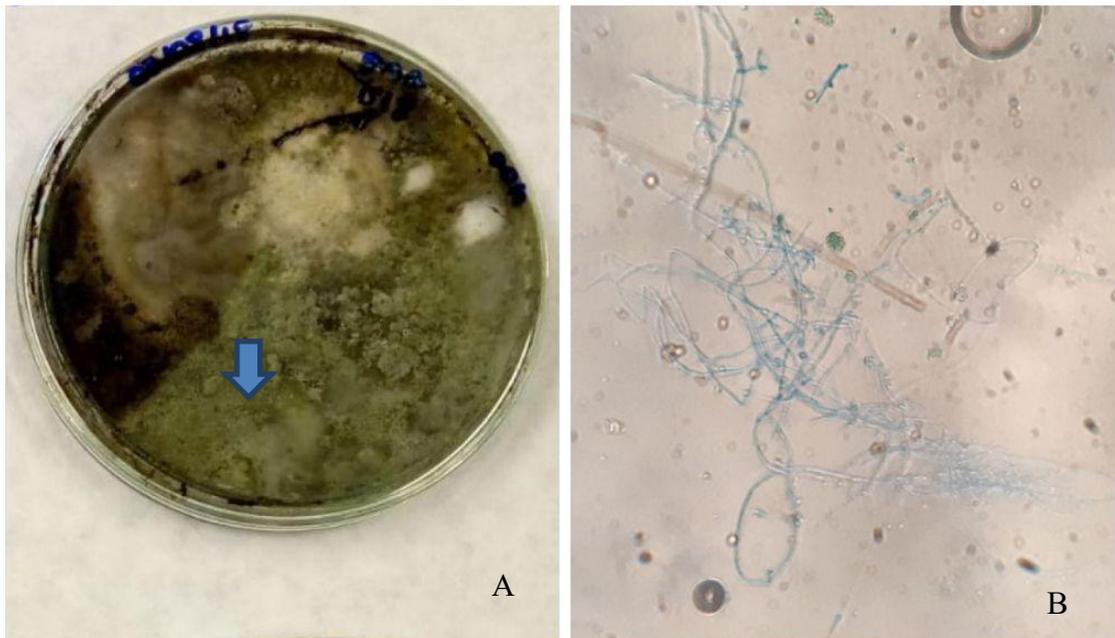


Imagem 16: Macroscopia da colônia (A) (seta azul) e microscopia (B) do gênero *Trichoderma* sp. no aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

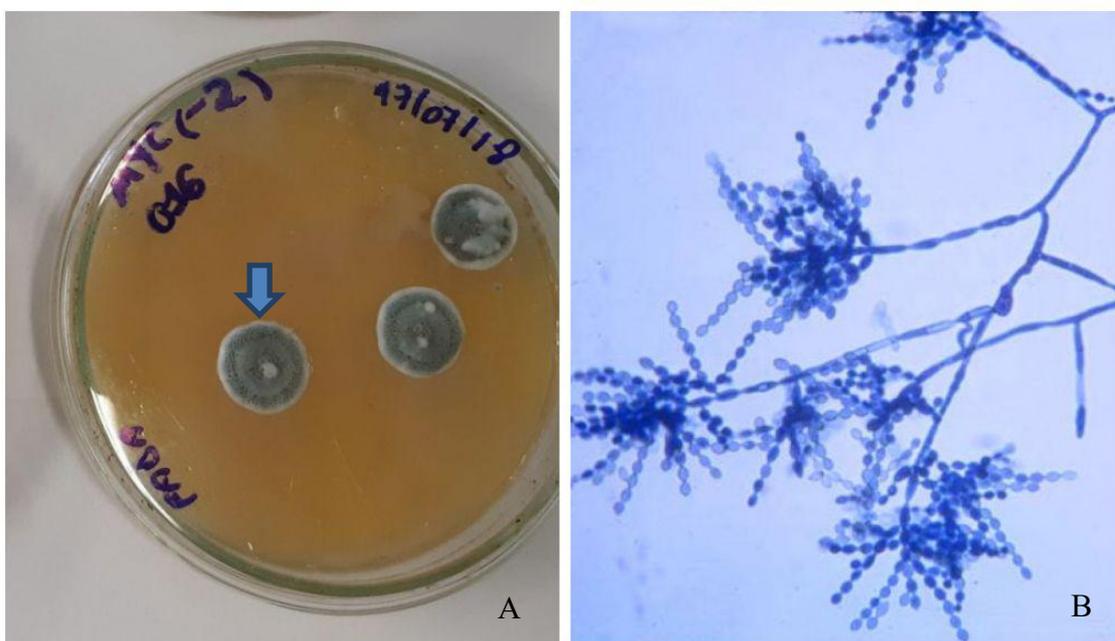


Imagem 17: Macroscopia da colônia (A) (seta azul) e microscopia (B) do gênero *Cladosporium* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

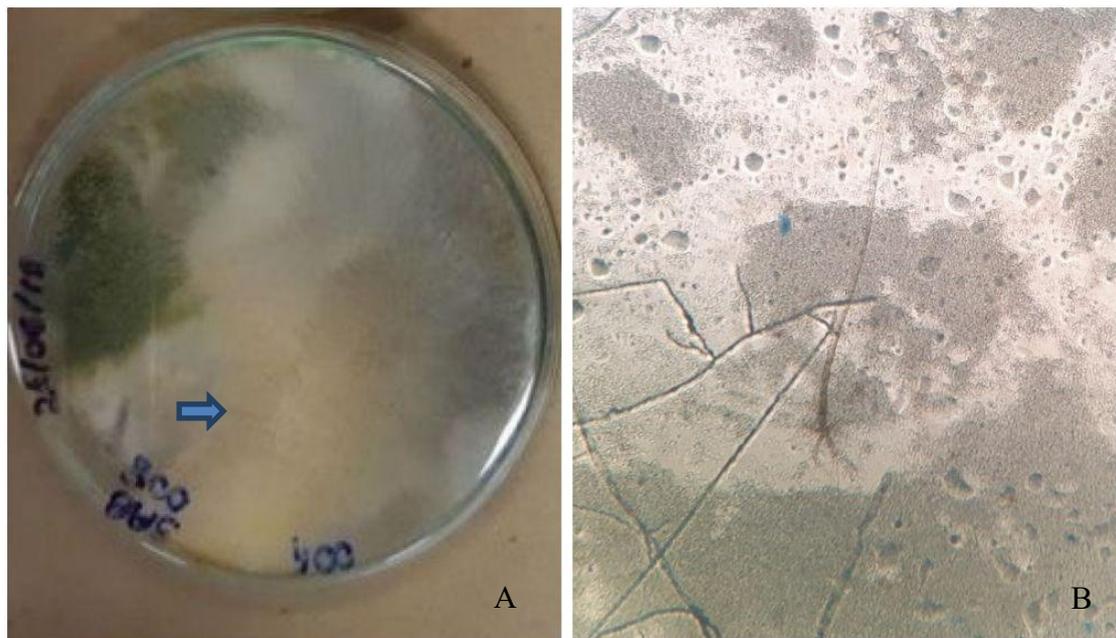


Imagem 18: Macroscopia da colônia (A) (seta azul) e microscopia (B) do gênero *Rhizopus* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

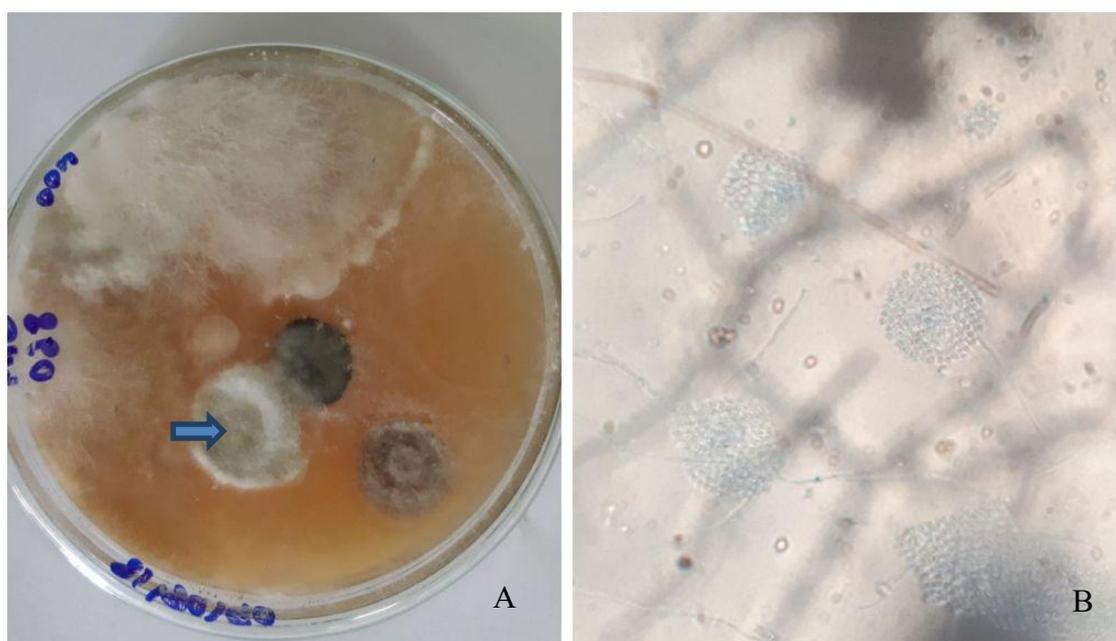


Imagem 19: Macroscopia da colônia (A) (seta azul) e microscopia (B) do gênero *Acremonium* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

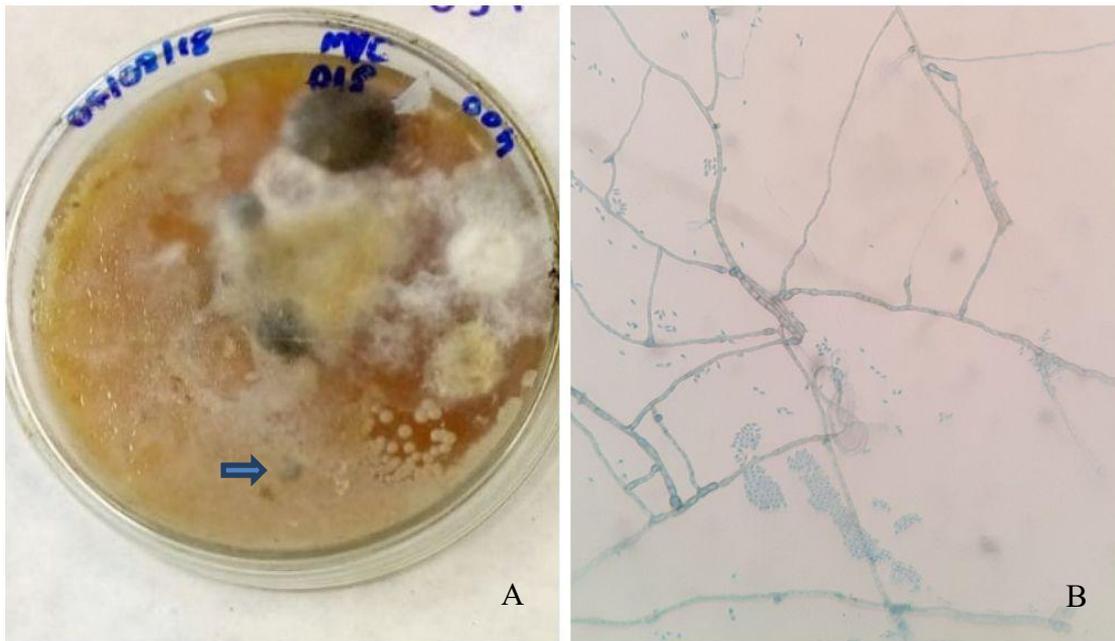


Imagem 20: Macroscopia da colônia (A) (seta azul) e microscopia (B) do gênero *Exophiala* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

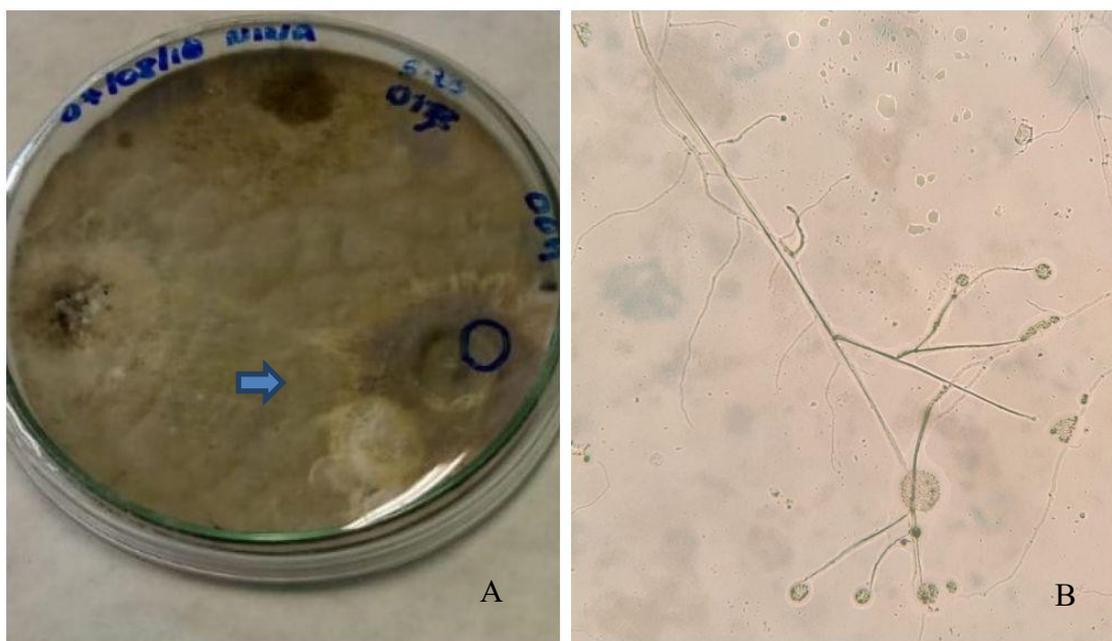


Imagem 21: Macroscopia da colônia (A) (seta azul) e microscopia (B) do gênero *Paecilomyces* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.



Imagem 22: Macroscopia da colônia (A – pode-se observar colônia esbranquiçada indica pela seta azul) e microscopia (B) do gênero *Trichosporon* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

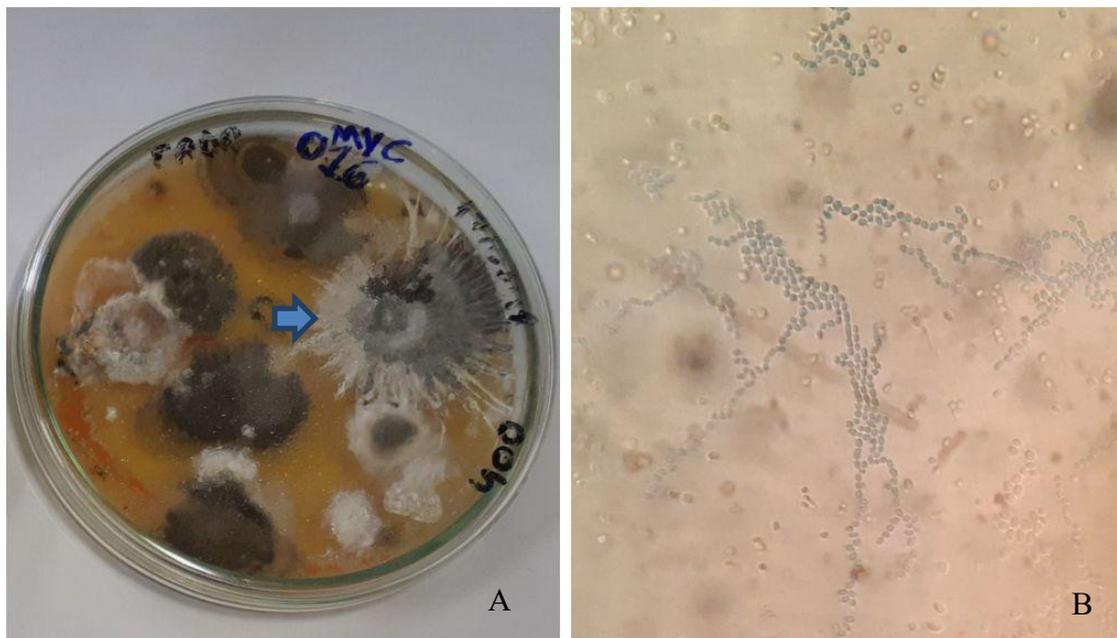


Imagem 23: Macroscopia da colônia (A) (seta azul) e microscopia (B) do gênero *Geotrichum* sp., aumento de 40x. Técnica de espalhamento. Fonte: Arquivo Pessoal.

## 6 DISCUSSÃO

A partir dos resultados obtidos, a técnica de *imprint* realizada sob as condições desse experimento não se mostrou eficaz para o isolamento e a identificação de fungos de crescimento moderado. Observou-se no presente estudo que através dessa técnica, mesmo com a utilização de meio de cultura Ágar Micobiótico Seletivo, específico para inibir fungos de crescimento rápido, houve crescimento fúngico exacerbado e acelerado, de modo que impossibilitou o isolamento e identificação dos mesmos. Esse achado discorda do que foi observado por Borges et al. (2013), que em seu estudo com felinos domésticos e selvagens ou exóticos conseguiram identificar, através dessa técnica, os fungos: *Sporothrix schenckii*, *Microsporum canis*, *Malassezia pachydermatis*, *Penicillium* sp.; *Aspergillus* sp., *Rhodotorula* sp., *Candida* sp., *Trichoderma* sp. e *Acremonium* sp.

No presente estudo nenhum felino avaliado apresentava lesões dermatológicas compatíveis com as características da esporotricose. Os resultados do presente estudo corroboram com os descritos por Borges et al. (2013), uma vez que nos felinos avaliados por eles, sem sinal clínico, também não foi possível a identificação do *Sporothrix* spp.

Vale ressaltar que embora na presente pesquisa fora realizada a técnica de Borges et al. (2013) seguindo protocolo por ele descrito, também foi empregada uma adaptação dessa técnica. A adaptação consistiu em submeter apenas um dos membros torácicos de um grupo de animais à antissepsia antes da coleta para comparação do crescimento das colônias entre as patas do mesmo animal. A partir da análise dos resultados referentes a esta adaptação pode-se observar que a antissepsia influenciou na redução da carga fúngica transferida das garras para as placas, no entanto, em ambos os casos houve crescimento acelerado e exacerbado, como anteriormente citado, influenciando negativamente no isolamento e posterior identificação fúngica.

De acordo com Venturelli et al. (2009) o álcool 70% é um antisséptico de nível intermediário, podendo ser utilizado em superfícies e na pele, penetrando

nos microrganismos sem causar desidratação celular, mas promovendo desnaturação das proteínas, culminando na redução dos microrganismos. Entretanto, no estudo realizado por Fernando et al. (2013), mesmo após a antisepsia com álcool 70%, constatou-se a persistência de leveduras nos colchões submetidos à pesquisa, informações que corroboram com as observadas no presente estudo.

Na corrente pesquisa, diferentemente da técnica de *imprint*, a técnica de espalhamento foi útil para o isolamento dos fungos de crescimento moderado (8 a 14 dias), no qual também se encaixam as espécies do Complexo *Sporothrix*. Foi possível, através da técnica de espalhamento, identificar os fungos: *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Exophiala* sp., *Fusarium* sp., *Geotrichum* sp., *Mucor* sp., *Paecilomyces* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Rhodotorula* sp., *Trichoderma* sp. e *Trichosporon* sp. Os fungos identificados com a técnica de espalhamento foram semelhantes aos descritos por Moriello; DeBoer (1991); Gambale et al. (1993); Cabanes (2000); Scott et al. (2001) e Paixão et al. (2001), que descrevem esses microrganismos como os fungos mais comumente isolados dos gatos, que albergam o tegumento e pelagem dos felinos, sendo saprófitos em sua grande maioria e fazendo parte da microbiota natural.

Estes fungos, embora descritos em sua maioria como saprófitos, podem promover na população humana o desenvolvimento de micoses sistêmicas oportunistas, que tem importância clínica principalmente em pacientes imunocomprometidos (CAREY et al., 2003). Nos felinos por sua vez, também podem promover o desenvolvimento de micoses superficiais e/ou profundas, em situações que acarretam queda de imunidade, revelando sua importância (GALIZA, et. al., 2014).

No atual estudo foram isolados agentes do gênero do *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., que são descritos na literatura como alguns dos microrganismos mais abundantes na natureza e com distribuição mundial, sendo frequentemente isolados no solo e matéria orgânica (LACAZ et al., 2002; SIDRIM, 2004; WARD et al., 2006). Essa ampla distribuição e presença em solo justificam o isolamento frequente do mesmo das garras dos felinos.

Adicionalmente, fungos como o *Cladosporium* sp. e *Paecilomyces* sp. são frequentemente isolados da pelagem de felinos semidomiciliados (AMARAL et al., 1998; LEITE, 2001), como é o caso dos animais avaliados no presente estudo, no qual cinco e dois animais apresentaram o *Cladosporium* sp. e *Paecilomyces* sp., respectivamente.

Outrossim, são raros os casos de zigomicoses causadas pelos fungos do gênero *Mucor* sp, *Rhizopus* sp., dentre outros (GINN et al., 2007), sendo observadas, quando os animais são acometidos, alterações gastrointestinais (GROOTERS; FOIL, 2006). Da mesma forma, dificilmente há relatos de faehifomicoses acometendo a população humana e felina (SEYEDMOUSAVI; GUILLOT et al., 2013). Isso justifica a ausência de sinais clínicos decorrente das mesmas nos animais submetidos ao atual estudo.

Vale ressaltar que a maioria dos fungos isolados nessa pesquisa são ubíquos e estão presentes no ambiente. Essas características facilitam o desenvolvimento de enfermidades por pacientes imunocomprometidos, já que a população fúngica presente na pelagem dos felinos é composta majoritariamente por fungos que habitam o ambiente em que o homem vive (MORIELLO et al., 1991), como é o caso do *Geotrichum* sp., *Rhodotorula* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Paecilomyces* sp., *Cladosporium* sp., *Trichoderma* sp., *Tricosporon* sp., todos esses descritos no presente estudo. Sendo assim, de acordo com Trabulsi et al. (1999) e Grumach (2001) o conhecimento acerca dos fungos ambientais são de extrema importância, uma vez que pode promover avanços e desenvolvimento técnico e científico sobre as enfermidades decorrentes da infecção por esses agentes.

O não isolamento de colônias de *Sporothrix* sp., mesmo utilizando a técnica de espalhamento, que se mostrou eficaz no isolamento e identificação de fungos de crescimento moderado, indica que possivelmente a prevalência do agente causador da esporotricose seja baixa na região, pela baixa aglomeração de gatos em praças ou outros ambientes de convívio social, como ocorre em grandes centros como Rio de Janeiro e São Paulo, reduzindo, dessa forma, a disseminação da doença.

Com base na pesquisa nacional de saúde, realizada no Brasil, estima-se que 21,3% dos domicílios no estado da Bahia tem ao menos um gato em suas residências e que a população felina no Brasil é cerca de 22,1 milhões (IBGE,2013), demonstrando a importância dos felinos como potenciais fontes de infecção para a população humana em decorrência desse compartilhamento de habitat. Nesse contexto, a falta de estudos epidemiológicos em felinos na microrregião de Ilhéus e Itabuna, Bahia, torna difícil a estimativa das doenças na região. Dessa forma, estudos investigativos sobre a presença de fungos patogênicos nas garras dos felinos se fazem importantes, uma vez que além de muitos destes, como já descrito, causarem alterações clínicas importantes nos gatos, eles também podem causar zoonoses, a exemplo do *Sporothrix* sp. (POESTER et al.,2018).

## 7 CONCLUSÃO

A técnica de espalhamento demonstrou ser útil no isolamento de colônias, algumas patogênicas oportunistas, revelando sua importância clínica em felinos e também potencial zoonótico, com impacto para a saúde humana, especialmente em humanos imunossuprimidos.

Os animais submetidos ao estudo foram negativos para o *Sporothrix* sp., através da técnica de *imprint* e da técnica de espalhamento.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. E. S. D., MARTINI, M. H., PORTO, E., CAMARGO, A. M. M. D., RIZZO, E. D., & LACAZ, C. D. S. Identification of the fungic microbiota isolated in areas considered aseptic. **Revista de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 201-206, 1988.

AMARAL, R. C., IBAÑEZ, J. F., MAMIZUKA, E. M., GAMBALE, W., DE PAULA, C. R., & EDUARDOLARSSON, C. Microbiota indígena do meato acústico externo de gatos hígidos. **Ciência Rural**, v.28, n.3, p.441-445, 1998.

AMITANI, R., TAYLOR, G., ELEZIS, E. N., LLEWELLYN-JONES, C., MITCHELL, J., KUZE, F., COLE, P. J. WILSON, R. Purification and characterization of factors produced by *Aspergillus fumigatus* which affect human ciliated epithelium. **Infection and immunity**. V.63, n.9 p. 3266-3271, 1995.

ANDRADE, S.F. Terapêutica antineoplásica. *In*: ANDRADE, S.F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2002. p.180-198.

ARAUJO, A. K. L., & LEAL, C. D. S. Feline sporotrichosis in Bezerros City, inland municipality of the state of Pernambuco, Brazil: case report. **PUBVET**, v. 10, n. 11, p. 816-820, 2016.

ARMELIN, N. T.; CUNHA, J. R. A. O papel e a importância do médico veterinário no sistema único de saúde: uma análise à luz do direito sanitário. **Cadernos Ibero-americanos de Direito Sanitário**, v. 5, n. 1, p. 60-77, 2016.

BARRON, G. **Cladosporium-diagram**. 2013.

BARROS, M. B. D. L., SCHUBACH, T. P., COLL, J. O., GREMIÃO, I. D., WANKE, B., & SCHUBACH, A. Esporotricose: A evolução e os desafios de uma epidemia. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v.27, p. 455-460, 2010.

BONIFAZ, A. Micología Médica Básica, Capítulo 5: **Hongos Contaminantes**, 4 edición, McGrawHill: México. pág 65, 600p, 2012.

BORGES, T. S., ROSSI, C. N., FEDULLO, J. D. L., TABORDA, J. P., & LARSSON, C. E. Isolation of *Sporothrix schenckii* from the claws of domestic cats (indoor and outdoor) and in captivity in São Paulo (Brazil). **Mycopathologia**, v. 176, n. 1-2, p. 129-137, 2013.

CABAÑES, F. J. Dermatofitosis animales: recientes avances. **Revista Iberoamericana de Micología**, v.17, p.8-12, 2000.

CAREY, J., D'AMICO, R., SUTTON, D. A., & RINALDI, M. G. Paecilomyces lilacinus vaginitis in an immunocompetent patient. **Emerging Infectious Diseases** jornal, v.9, n.9, p.1155-1158, 2003.

CARTER G.R. **Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária**. São Paulo: Roca. 1988, p.250.

CASTRO, N. B., ROLIM, V. M., NASCIMENTO, L. C. D., SILVEIRA, A. F., ARGENTA, F. F., FERREIRO, L., ... & SONNE, L. Fungal diseases in cats in Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 2017, 37.11: 1313-1321.

CHAKRABARTI, A., BONIFAZ, A., GUTIERREZ-GALHARDO, M. C., MOCHIZUKI, T., & LI, S. Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical mycology**, v. 53, n. 1, p. 3-14, 2015.

CHERMETTE, R., FERREIRO, L., & GUILLOT, J. Dermatophytoses in Animals. **Mycopathologia**, v. 166, p. 385–405, 2008.

CORDEIRO, R.A. **Zigomicose e Hialo-hifomicose**. In: SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G.: *Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. Cap. 16, p. 166 a 176.

CRUZ, Luiz Celso Hygino. **Micologia Veterinária**. 2. ed. Revinter, 2010. 348p

CRUZ, L. C. H. Complexo *Sporothrix schenckii*. Revisão de parte da literatura e considerações sobre o diagnóstico e a epidemiologia. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, p. 08-28, 2013.

DOSTER, A. R., ERICKSON, E. D., & CHANDLER, F. W. Trichosporonosis in two cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 190, n. 9, p. 1184-1186, 1987.

FAIA, A. M. F. F. **Isolamento e identificação de fungos filamentosos e leveduras em alguns pontos de uma rede de distribuição de água**. 2011. 52f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Biotecnologia) – Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, 2011.

FALQUETO, A. Unusual clinical presentation of sporotrichosis in three members of one family. **International journal of dermatology**, v. 51, n. 4, p. 434-438, 2012.

FARIAS, M. R., CONDAS, L. A. Z., RAMALHO, F., BIER, D., MURO, M. D., & PIMPÃO, C. T. Evaluation of the asymptomatic carrier state of dermatophytes in cats (*Felis catus*-Linnaeus, 1793) destined to adoption in zoonoses control centers and animal protection societies. **Veterinária e Zootecnia**, v. 18, n. 2, p. 306-312, 2011.

FERNANDO, F. D. S., FERREIRA, A. M., COLOMBO, T. E., RUBIO, F. G., & ALMEIDA, M. T. G. D. Fungal contamination of hospital mattresses before and

following cleaning and disinfection. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.26, n.5, p.485–491, 2013.

FERREIRO, L., SPANAMBERG, A., BORBA, M. R., SANCHES, E. M., ROEHE, C., SANTÚRIO, J. M., & CHERMETTE, R. Feohifomicoses: infecções micóticas emergentes. **Acta Scientiae Veterinariae. Porto Alegre**, v.35, n2, p.239-241, 2007.

FREITAS, D. F. S., VALLE, A. C. F. D., PAES, R. D. A., BASTOS, F. I. P. M., & GALHARDO, M. C. G. Zoonotic sporotrichosis in Rio de Janeiro, Brazil: a protracted epidemic yet to be curbed. **Clinical Infectious Diseases**, v.50, n.3, p.453, 2010.

GALIZA, G. J., DA SILVA, T., CAPRIOLI, R., BARROS, C., IRIGOYEN, L., FIGHERA, R., LOVATO, M., KOMMERS, G. Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, n.3, p.224-232, 2014.

GAMBALE, W., LARSSON, C. E., MORITAMI, M. M., CORRÊA, B., PAULA, C. R., & SOUZA, V. M. Dermatophytes and other fungi of the haircoat of cats without dermatophytosis in the city of Sao Paulo, Brazil. **Feline Practice**, v.21, p.29-33, 1993.

GINN, P.E. Skin and appendages. In: MAXIE M.G. **Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals**, v.1, Oxford: Elsevier, 2007, p.553-781.

GIONFRIDDO, J. R. Feline systemic fungal infections. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. v.30, p.1029-1050, 2000.

GOMEZ-LOPEZ, A., MELLADO, E., RODRIGUEZ-TUDELA, J. L., & CUENCA-ESTRELLA, M. Susceptibility profile of 29 clinical isolates of *Rhodotorula* spp. And literature review. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 55, n. 3, p. 312-316, 2005.

GOMPERTZ, O. F. Micologia Especial e Clínica. In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM. **Microbiologia**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2005, p.473-505.

GROOTERS, A.M. & Foil C.S. Miscellaneous fungal Infection. In: GREENE, C.E. (Ed.), **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3<sup>rd</sup> ed. Saunders Elsevier, St Louis, 2006, p.637-650.

GROOTERS, A.M. Pythiosis, lagenidiosis, and zygomycosis in small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, vol. 33, p.695-720, 2003.

GRUMACH, A. S. **Alergia e imunologia na infância e na adolescência**. São Paulo: Atheneu, p.16-21, 2001.

GUTIERREZ-GALHARDO, M. C., FREITAS, D. F. S., DO VALLE, A. C. F.,

ALMEIDA-PAES, R., DE OLIVEIRA, M. M. E., & ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R. M. Epidemiological aspects of sporotrichosis epidemic in Brazil. **Current Fungal Infection Reports**, v. 9, n. 4, p. 238-245, 2015.

Instituto Brasileiro de geografia e estatística; **Coordenação de trabalho e rendimento. Acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências: Brasil, grandes regiões e unidades da federação.** 2013. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv94074.pdf>>. Acesso em: 2 fev. 2019.

JUNIOR, A. D. S. R., ARAÚJO, M. D., AÑAÑA, D. C., BATISTA, M., ACOSTA, G. S., GUTERRES, K. A., *ATHAIDE, C., STELMAKE, L.L., CLEFF, M. B.* Medicina veterinária na promoção da saúde humana e animal: ações em comunidades carentes como estratégias de enfrentamento da desigualdade social. **Revista Ciência em Extensão**, v. 8, n. 3, p. 278-283, 2012.

KENDIRLI, T., CIFTÇI, E., İNCE, E., ÖNCEL, S., DALGIÇ, N., GÜRİZ, H., ... & DOGRU, U. Successful treatment of Trichosporon mucoides infection with lipid complex amphotericin B and 5-fluorocytosine. **Mycoses**, v. 49, n.3 p. 251–253, 2005.

KOZAK, M., BILEK, J., BELADICOVA, V., BELADICOVA, K., BARANOVA, Z., & BUGARSKY, A. Study of the dermatophytes in dogs and the risk of human infection. **Bratislavské lekárske listy**, v. 104, n. 7/8, p. 211-217, 2003.

KOZAKIEWICZ, Z. Aspergillus species on stored produces. **Mycological papers**. Netherlands, v.161, p.1-188, 1989.

Kwon-Chung K, Bennet J. **Sporotrichosis**. In: Kwon-Chung K, Bennet J, editors. Medical Mycology. Philadelphia: Lea &Febiger; 1992. p.707-29.

LACASSE, A., & CLEVELAND, K. O. Trichosporon mucoides fungemia in a liver transplant recipient: case report and review. **Transplant Infectious Disease**, v.11, n.2, p. 155-559, 2009.

LACAZ, C. D. S., PORTO, E., MARTINS, J. C., HEINS-VACCARI, E. M., & TAKAHASHI DE MELO, N. **Tratado de Micologia Médica**. 2002. 9ª ed. São Paulo: SARVIER. 1104p.

LACERDA, A.M.F, Bandeira V, Sidrim JJC. **Micoses subcutâneas**. In: Sidrim JJC, Moreira JLB, editors. Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p.287.

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

LEITE, C. A. L. Microbiota fúngica presente no conduto auditivo externo de gatos hígidos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA

FELINA/CIMFEL, 2, 2001, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Núcleo de Ciência Veterinária/NCV, 2001. p.27.

LEVY, C. E. Detecção e identificação dos fungos de importância médica. **Manual de Microbiologia Clínica para o controle de infecção em serviços de saúde**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2004, 1-27.

LIMA, A.O. **Métodos de laboratório aplicados à clínica**. 5ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1977, 669p.

LOSS, S. H., ANTONIO, A. C. P., ROHRIG, C., CASTRO, P. S., & MACCARI, J. G. Meningitis and infective endocarditis caused by *Rhodotorulamucilaginosa* in an immunocompetent patient. **Revista brasileira de terapia intensiva**, v. 23, n. 4, p. 507-509, 2011.

MACRAE, Robert; ROBINSON, Richard Kenneth; SADLER, Michèle J. **Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition**. 1993

MARIANI, C. L., PLATT, S. R., SCASE, T. J., HOWERTH, E. W., CHRISMAN, C. L., & CLEMMONS, R. M. Cerebral phaeohyphomycosis caused by *Cladosporium* spp. in two domestic shorthair cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 38, n. 3, p. 225-230, 2002.

MARIMON, R.P. **Filogenia molecular caracterizació fenotípica del complex d'espècies d'*Sporothrix chenckii***. 2007. 297f. Tese de doutorado. Curso de Medicina, Universitat Rovira i Virgili, Catalunya, Espanha, 2007.

MARQUES, G. F., MARTINS, A. L. G. P., SOUSA, J. M. P., BRANDÃO, L. S. G., WACHHOLZ, P. A., & MASUDA, P. Y. Characterization of sporotrichosis cases treated in a dermatologic teaching unit in the state of São Paulo-Brazil, 2003-2013. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 90, n. 2, p. 273-275, 2015.

MARQUES, S. A., CAMARGO, R. M. P. D., ABBADE, L. P. F., & MARQUES, M. E. A. Mucormicose: infecção oportunística grave em paciente imunossuprimido. Relato de caso. **Diagnóstico e tratamento**, v.15, n.2, p.65-67, 2010.

MARR, K. A., CARTER, R. A., CRIPPA, F., WALD, A., & COREY, L. Epidemiology and outcome of mould infections in hematopoietic stem cell transplant recipients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 34, n. 7, p. 909-917, 2002.

MATTEI, A.S. Isolamento de fungos filamentosos em hospital e clínicas veterinárias, 2006. Gramado. In: **Anais do XVII Congresso Estadual de Medicina Veterinária**. Gramado, 2006.

MATTEI, A. S. **Pesquisa de fungos com potencial patogênico em ambientes e equipamentos de uso veterinário e avaliação da desinfecção hospitalar**. 2010. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Sanidade Animal)

- Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

MCKAY, J. S., COX, C. L., & FOSTER, A. P. Cutaneous alternariosis in a cat. **Journal of Small Animal Practice**, v. 42, n. 2, p. 75-78, 2001.

MEIRELES, M. C.; NASCENTE P. S. **Micologia Veterinária**. 1. ed. Pelotas: Universitária UFPEL, 2009. 456p.

MOHANTY, D., DHAR, M., & DWIVEDI, S. Mucormycosis. **Tropical Doctor**. v.40, n.2, p.127-8, 2010.

MONTENEGRO, H., RODRIGUES, A. M., DIAS, M. A. G., DA SILVA, E. A., BERNARDI, F., & DE CAMARGO, Z. P. Feline sporotrichosis due to *Sporothrix brasiliensis*: an emerging animal infection in São Paulo, Brazil. **BMC Veterinary Research**, v. 10, n. 1, p. 269, 2014.

MORIELLO, K.; DEBOER, D.J. Fungal flora of the hair coat of cats with and without dermatophytosis. **Journal of Medical Veterinary Mycology**, v.29, N.5, p.285 -292, 1991.

NYAOKE, A., WEBER, E. S., INNIS, C., STREMMER, D., DOWD, C., HINCKLEY, L., GORTON, T., WICKES, B., SUTTON, D., HOOG, S., FRASCA, J.S. Disseminated phaeohyphomycosis in weedy seadragons (*Phyllopteryx taeniolatus*) and leafy seadragons (*Phycodurus eques*) caused by species of *Exophiala*, including a novel species. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 2009, 21.1: 69-79.

LAPIN, R. M. Diagnóstico Laboratorial de Doenças Infecciosas. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. p. 1283-1396.

NUNES, G. D. L., CARNEIRO, R. D. S., FILGUEIRA, K. D., FILGUEIRA, F. G. F., & FERNANDES, T. H. T. Feline sporotrichosis in the city of Itaporanga, state of Paraíba, Brazil: a case report. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zootecia da UNIPAR**, v. 14, n. 2, p. 157-161, 2011.

OLIVEIRA, M. M. E., ALMEIDA-PAES, R., MUNIZ, M. M., GUTIERREZ-GALHARDO, M. C., & ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M. Phenotypic and molecular identification of *Sporothrix* isolates from an epidemic area of sporotrichosis in Brazil. **Mycopathologia**, v.172, n.4, p.257-67, 2011.

OLIVEIRA, J. C. **Diagnóstico Micológico por imagem**. 1.ed. Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: <[https://controllab.com/pdf/diagnostico\\_micologico\\_por\\_imagem.pdf](https://controllab.com/pdf/diagnostico_micologico_por_imagem.pdf)>. Acesso em: 01 de fev.2019, 20:43.

OLIVEIRA, M. M. E., MAIFREDE, S. B., RIBEIRO, M. A., & ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M. Molecular identification of *Sporothrix* species involved in the first familial outbreak of sporotrichosis in the state of Espírito Santo,

southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 7, p. 936-938, 2013.

PAIXÃO, G. C., SIDRIM, J. J. C., CAMPOS, G. M. M., BRILHANTE, R. S. N., & ROCHA, M. F. G. Dermatophytes and saprobe fungi isolated from dogs and cats in the city of Fortaleza, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 5, p. 568-573, 2001.

PILANIYA, V., GERA, K., GOTHI, R., & SHAH, A. Acute invasive pulmonary aspergillosis, shortly after occupational exposure to polluted muddy water, in a previously healthy subject. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 41, n. 5, p. 473-477, 2015.

POESTER, V. R., MENDES, J. F., GROLL, A. V., KLAFKE, G. B., BRANDOLT, T. M., & XAVIER, M. O. Sporothrix spp. evaluation in soil of a hyperendemic area for sporotrichosis in southern Brazil. **Ciência Animal Brasileira**, v.19, p.1-8, e-52571, 2018.

PRABHU, R. M.; PATEL, R. Mucormycosis and entomophthoromycosis: a review of the clinical manifestations, diagnosis and treatment. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, n.1, p. 31-47, 2004.

DA ROSA, A. C. M., SCROFERNEKER, M. L., VETTORATO, R., GERVINI, R. L., VETTORATO, G., & WEBER, A. Epidemiology of sporotrichosis: a study of 304 cases in Brazil. **Journal of American Academy Dermatology**. v.52,n.3, p.451-459, 2005.

SCHUBACH, T. M.P. et al. Evaluation of an epidemic of sporotrichosis in cats: 347 cases (1998–2001). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 10, p. 1623-1629, 2004.

Scott, D. W., & Miller, W. H. *Fungal Skin Diseases. Equine Dermatology*. In: SCOTT, D. W. et al. **Small Animal Dermatology**. 6.ed. Philadelphia: W. B. Saunders,2001, p. 171–211.

SEYEDMOUSAVI, S., GUILLOT, J., & DE HOOG, G. S. Phaeohyphomycoses, emerging opportunistic diseases in animals. **ClinicalMicrobiologyReviews**, v. 26, n. 1, p. 19-35, 2013.

SIDRIM, J. J. C., ROCHA, M. F. G. **Biologia dos fungos**. In: SIDRIM, J. J. C; ROCHA, M.F.G. *Micologia Médica à luz de autores contemporâneos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p.41-49.

SILVA, S. M., CASTRO, R. S., COSTA, F. A., VASCONCELOS, A. C., BATISTA, M. D. C. S., & RIET-CORREA, F. Epidemiologia e sinais clínicos da conidiobolomicose em ovinos no Estado do Piauí. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n.4, p.184-190, 2007.

SILVA, G. M., HOWES, J. C. F., LEAL, C. A. S., MESQUITA, E. P., PEDROSA, C. M., OLIVEIRA, A. A. F., SILVA.L.B.G., MOTA, R. A.Outbreak of feline

sporotrichosis in the metropolitan area of Recife. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1767-1771, 2018.

SILVA, M. B. T. D., COSTA, M. M. D. M., TORRES, C. C. D. S., GALHARDO, M. C. G., VALLE, A. C. F. D., MAGALHÃES, M. D. A. F., **SABROZA**, P.C., OLIVEIRA, R. M. D. Esporotricose urbana: epidemia negligenciada no Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 28, p. 1867-1880, 2012.

SOUZA, L. L. D., NASCENTE, P. D. S., NOBRE, M. O., MEINERZ, A. R. M., & MEIRELES, M. C. A. Isolation of *Sporothrixschenkii* from the nails of healthy cats. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, n. 3, p. 372-374, 2006.

TABOADA, J. Micoses sistêmicas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. (Ed.) **Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato**. 5. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2004. p.478-503.

TENNANT, K., PATTERSON-KANE, J., RYCROFT, A. N., & BOAG, A. K.. Nasal mycosis in two cats caused by *Alternaria* species. **The Veterinary Record**, v. 155, n. 12, p. 368, 2004.

TRABULSI, L. R., ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu.1999, 586p.

VASCONCELLOS, C., PEREIRA, C. Q. M., SOUZA, M. C., PELEGRINI, A., FREITAS, R. S., & TAKAHASHI, J. P. Identification of fungi species in the onychomycosis of institutionalized elderly. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 88, n. 3, p. 377-380, 2013.

VENTURELLI, A. C., TORRES, F. C., ALMEIDA-PEDRIN, R. R. D., ALMEIDA, R. R., ALMEIDA, M. R., & FERREIRA, F. P. C. Avaliação microbiológica da contaminação residual em diferentes tipos de alicates ortodônticos após desinfecção com álcool 70%. **Revista Dental Press de Ortodontia e Ortopedia Facial**, v. 14, n. 4, p.43-52, 2009.

VIANA, F. A. B. Guia terapêutico Veterinário. 3.edição. **Lagoa Santa: CEM**, 2014, p.560

WARD, O. P. Physiology and Biotechnology of *Aspergillus*. **Advances in Applied Microbiology**, v.58, p.75, 2006.

XAVIER M. O., MEINERZ, A. R. M., CLEFF, M. B., OSÓRIO, L. D. G., SCHUCH, L. F. D., NOBRE, M. D. O., **Silva Filho, R. P., Meireles, M. C. A. M.** A Eficácia da clorexidinacetrimida na desinfecção ambiental contra *Aspergillus* spp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.873-877, 2008.

## ANEXO 1

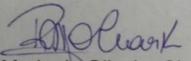
**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ**  
**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)**

---

**CERTIFICADO**

Certificamos que o **Protocolo nº 020/16**, relativo ao projeto intitulado **Investigação epidemiológica e caracterização molecular de fungos do complexo *Sporothrix schenckii* obtidos através de isolamento das unhas de felinos domésticos semidomiciliados da microrregião Ilhéus-Itabunã**, do **Dr. Antônio Roberto da Paixão Ribeiro**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela **Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA – UESC)**. Este Protocolo foi aprovado dia 26/07/2016. Este certificado é válido por 04 (quatro) anos, a partir da data de sua emissão.

Ilhéus, 11 de agosto de 2016.

  
Rosana Maria de Oliveira Clark  
Coordenadora da CEUA-UESC

Rosana Maria de Oliveira Clark  
Coordenadora da CEUA-UESC  
Cad.: 73.509.169-3

---

Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC  
Campus Prof. Soane Nazaré de Andrade,  
Km 16 – Rodovia Ilhéus/Itabuna – CEP: 45.662-000, Ilhéus – Bahia – Brasil  
Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) – Telefax: (73) 3680-5319 – ceuuesc@gmail.com

**ANEXO 2****QUESTIONÁRIO – UESC – PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIA ANIMAL (PPGCA) – MESTRADO – 2018**

---

- 1-NOME DO PROPRIETÁRIO
- 2-NOME DO ANIMAL
- 3-ENDEREÇO
- 4-TELEFONE
- 5-IDADE DO ANIMAL
- 6-SEXO
- 7-RAÇA
- 8-PELAGEM
- 9-CRONOGRAMA VACINAL
- 10-AMBIENTE /LOCAL DE FEZES E URINA
- 11-ACESSO A RUA
- 12- CASTRADO
- 13- CONTACTANTES
- 14- PRESENÇA OU AUSENCIA DE ECTOPARASITAS
- 15- ALIMENTAÇÃO
- 16- VERMIFUGAÇÃO
- 19- LESOES DERMATOLÓGICAS

### ANEXO 3



Meios de cultura utilizados – da esquerda para a direita: Ágar Micobiótico Seletivo (Biolog); Difco™ Sabouraud Dextrose Agar; Brain Heart Infusion Agar – kasvi; Potato Dextrose Broth.

### COMPOSIÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA (g/L)

#### Ágar Micobiótico Seletivo (Biolog)

Peptona Soja -----10,00g

D(+)-Glicose anidra ACS-----10,00g

Cicloheximidapuriss -----0,40g

Cloranfenicol puríssimo -----0,05g

Agar Bacteriológico -----15,00g

#### Difco™ Sabouraud Dextrose Agar

Peptic Digesto f Animal Tissue -----5,0g

Pancreatic Digesto f Casein -----5,0g

Dextrose -----40,0g

Agar -----15g

**Potato Dextrose Broth**

PotatoInfusionSolids -----4,0g  
Dextrose -----20g

**Brain Heart Infusion Agar – kasvi**

Brain Heart Infusion-----17.5g  
Peptone -----10,0g  
Glucose -----2,0g  
SodiumChloride -----5,0g  
DisodiumPhosphate -----2,5g  
Agar -----15,0g