

MARCONI RODRIGUES DE FARIAS

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, CITOPATOLÓGICA E
HISTOPATOLÓGICA SERIADA DA
ESPOROTRICOSE EM GATOS (*Felis catus*-
LINNAEUS, 1758) INFECTADOS
EXPERIMENTALMENTE.**

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu,
para a obtenção do título de Mestre em
Medicina Veterinária, Área de Clínica
Veterinária.**

**Botucatu- SP
-2000-**

MARCONI RODRIGUES DE FARIAS

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, CITOPATOLÓGICA E
HISTOPATOLÓGICA SERIADA DA
ESPOROTRICOSE EM GATOS (*Felis catus*-
LINNAEUS, 1758) INFECTADOS
EXPERIMENTALMENTE.**

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de Botucatu,
para a obtenção do título de Mestre em
Medicina Veterinária, Área de Clínica
Veterinária.**

**Orientadora: Profa. Ass. Dra. Sônia
Regina Verde da Silva Franco.**

**Botucatu- SP
-2000-**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **SULAMITA S.C. COLNAGO**

Farias, Marconi Rodrigues

Avaliação clínica, citopatológica e histopatológica seriada da esporotricose em gatos (*Felis catus*-Linnaeus, 1758) infectados experimentalmente / Marconi Rodrigues de Farias. – 2000.

Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

1.Esporotricose – Gatos

CDD 636.80896992

Palavras-chave: Felino; Esporotricose; Citopatologia; Histopatologia

*A minha mãe Maria Madalena Rodrigues de Farias e minhas irmãs Aline e
Uyara pelo amor, carinho e dedicação que sempre cercaram nosso
relacionamento e pelas lições de perseverança e desígnios éticos que
moldaram minha educação.*

*“Toda mãe vive de boa, mas cada uma cumpre sua paga prenda singular, que é a
dela e dela, diversa bondade. A bondade especial de minha mãe tinha sido a de amor
constando com a justiça, que eu menino precisava. E a de, mesmo no punir meus
demaseios, querer-bem às minhas alegrias, feito grandeza cantável, feito entre
madrugar e manhecer.”*

(João Guimarães Rosa, Grande sertão: veredas)

“Quem trás na pele a marca Maria, possui a estranha mania de ter fé na vida”.

*A meu pai Doracílio Fernandes de Farias ”in memorian”,
Sinto - lhe presente, munido de uma tocha cuja a luz não treme, levando a claridade
intensa aos subterrâneos do ideal.
Saudades!*

*A minha esposa Luciane Bulkool e meu filho Vítor,
pelo amor generoso, fundamentado na reciprocidade e no respeito,
pelo insentivo constante e por compartilharem comigo todos os momentos.*

*“Dá-me uma mão a mim e a outra a tudo que existe,
e assim vamos os três pelo caminho que houver...
E gozando o nosso segredo comum que é o de saber
por toda parte que não há segredo no mundo
E que tudo vale a pena.”*

(Fernando Pessoa, O guardador de rebanhos)

*A professora Sônia Regina Verde da Silva Franco
Como grande amiga me ofereceu todas minhas oportunidades profissionais
Como educadora orientou-me nos vários níveis de minha formação
Como mestre triou meu caminho*

*“Quando o sol se põe, riquíssimo: ouro derrama sobre o mar, por sua inesgotável
riqueza.*

...E quem quer criar para além de si, este tem para mim a mais pura das vontades ”

(Friedrich Nietzsche, Assim falou Zaratustra)

AGRADECIMENTOS

A todos aqueles que participam do ideal acadêmico de construção de uma Universidade atuante, promotora de um ensino de qualidade, indissociado da pesquisa científica e da extensão, capaz de apresentar soluções para a modernidade e reformular a sociedade a qual está inserida.

Aos amigos Pedro Carlos, Vamilton Santarém, Raimundo Tostes, Renato Sampaio, Célia Navarro, Rodrigo Nogueira e Jayme Augusto pela amizade, apoio, incentivo e exemplos diários de vida.

Aos docentes do Serviço de Clínica Médica de Pequenos Animais: Professores Helena Ferreira, Flávio Quaresma Moutinho, Michiko Sakate, Denise Schwarts e Cid Figueiredo pela amizade, complementação técnica e ética de minha formação profissional.

Aos amigos Luís Mauro, Luís maurinho e Alessandra por nossa união fraternal.

As amigas Alessandra Melchert, Maria Lúcia Gomes Lourenço, Luciana Felício, amigas inseparáveis nesta longa estrada, “esta linha que nunca termina” .

Aos Médicos Veterinários Residentes João Brant, Rafael e Rodrigo Santos pela grande dedicação e espírito de aprendiz.

Aos Professores do Serviço de Dermatologia e Radioterapia da FM-UNESP-Botucatu Sílvio Alencar e Vidal Addah e ao Professor Viciany Erique Fabris,

do Serviço de Patologia da FM-UNESP-Botucatu, pelas orientações e observações sempre valiosas, pelo exemplo de vida acadêmica e dedicação.

Ao Professor Adalberto, professor de Bioestatística do Instituto Básico na UNESP- Botucatu pela preciosa e criteriosa análise de dados.

A Pró- Reitoria de Pesquisa e Pós- Graduação da UNOESTE pelo apoio despendido a realização deste projeto.

Aos Professores Cecília Laposy, Adriana Falco, Rosa Barilli e Fabiano Séllos da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE) por toda colaboração no desenvolvimento deste projeto e amizade.

Aos funcionários do Serviço de Patologia da FM-UNESP-Botucatu: Claudinei, Isaíra e Paulo; do Serviço de Dermatologia e Radioterapia da FM-UNESP-Botucatu: Rosângela; do Serviço de Apoio diagnóstico do Hospital veterinário da UNOESTE- Pres.Prudente: Ana Maria Siqueira, e aos auxiliares de ensino: Alexandre José de Araújo, Marcos e Paulo Claudeir, que com tanta dedicação ajudaram na convecção do trabalho experimental e elaboração da dissertação.

A todos muito obrigado

*“Zaratustra, porém, olhava para o povo e se admirava. Depois falou assim:
O homem é uma corda, atada entre o animal e o além-do-homem — uma corda
sobre o abismo.*

*Perigosa travessia, perigoso caminho, perigoso olhar para trás...
O que é grande no homem, é que ele é uma ponte e não um fim: o que pode ser
amado no homem é que ele é um passar e um sucumbir.
Amo aqueles que não sabem viver a não ser como os que sucumbem, pois são
os que atravessam.*

*Amo aqueles que não procuram atrás das estrelas uma razão para sucumbir e
serem sacrificados: mas que se sacrificam à terra, para que a terra um dia se
torne do além do homem.*

*Amo aquele que vive para conhecer e que quer conhecer para que um dia o
além-do-homem viva. E assim quer ele sucumbir.”
(Friedrich Nietzsche, Assim falou Zaratustra)*

*“Mas tudo veio a ser; não há fatos eternos: assim como não há verdades
absolutas”*

(Friedrich Nietzsche, Humano, demasiado humano)

DADOS CURRICULARES
MARCONI RODRIGUES DE FARIAS

NASCIMENTO	29.10.1971 – BRASÍLIA/DF
FILIAÇÃO	Doracílio Fernandes de Farias Maria Madalena Rodrigues de Farias
1989/1994	Curso de Graduação Centro de Ciências Biomédicas Faculdade de Medicina Veterinária Universidade Federal de Uberlândia (MG)
1995/1996	Residência em Medicina Veterinária Área de Clínica Veterinária de Pequenos Animais Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “ Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Botucatu (SP)
1997	Ingresso no Curso de Mestrado em Medicina Veterinária Área de Clínica Veterinária da FMVZ - UNESP- Botucatu.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	08
LISTA DE FIGURAS	09
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	13
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1. <i>Definição e etiologia</i>	17
2.2. <i>Epidemiologia</i>	18
2.3. <i>Aspectos antroponóóticos</i>	21
2.4. <i>Aspectos clínicos</i>	23
2.5. <i>Avaliação clínica da infecção experimental</i>	26
2.6. <i>Avaliação histopatológica e da resposta imunológica ao Sporothrix schenckii</i>	29
2.7. <i>Avaliação citopatológica</i>	33
2.8. <i>Avaliação do cultivo e identificação fúngica</i>	34
3. MATERIAL E MÉTODO	36
3.1. <i>Formação do grupo experimental</i>	36
3.2. <i>Microrganismos fúngicos</i>	36
3.3. <i>Preparação do inóculo fúngico e averiguação de sua viabilidade</i>	37
3.4. <i>Infecção experimental</i>	38
3.5. <i>Avaliação clínica</i>	38
3.6. <i>Avaliação histopatológica</i>	39
3.7. <i>Avaliação citopatológica</i>	40
3.8. <i>Avaliação da disseminação sistêmica da infecção</i>	41
3.9. <i>Análise estatística</i>	43

4. RESULTADOS	44
4.1. <i>Avaliação clínica</i>	44
4.2. <i>Avaliação dermatopatológica</i>	49
4.3. <i>Avaliação das células fúngicas</i>	58
4.4. <i>Avaliação citopatológica</i>	63
4.5. <i>Avaliação do cultivo fúngico lesional</i>	66
4.6. <i>Avaliação da sensibilidade entre os exames histopatológicos, citopatológicos e cultivo fúngico</i>	67
4.7. <i>Avaliação histopatológica e cultivo do cultivo de múltiplos órgãos</i>	68
5. DISCUSSÃO	75
5.1. <i>Avaliação clínica seriada e potencial de dissemi- nação sistêmica da infecção experimental</i>	75
5.2. <i>Avaliação histopatológica da resposta inflamató- ria e das células fúngicas</i>	79
5.3. <i>Avaliação do exame citopatológico e compara- ção da sensibilidade deste e dos exames histopa- tológico, citopatológicos e cultivo fúngico</i>	85
6. CONCLUSÃO	86
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
Resumo	96
Abstract	97

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1- Médias do diâmetro lesional (cm) em relação à semana de infecção e sexo em felinos (<i>Felis catus</i>) infectados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> .	48
Tabela 2- Medianas de escores do infiltrado inflamatório dérmico em relação ao sexo (M- machos e F- fêmeas) e aos dias de infecção, em felinos (<i>Felis catus</i>) infectados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> .	51
Tabela 3- Medianas de escores do infiltrado inflamatório subcutâneo em relação ao sexo (M- machos e F- fêmeas) e aos dias de infecção, em felinos (<i>Felis catus</i>) infectados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> .	51
Tabela 4- Medianas de escores de intensidade de células fúngicas segundo localização histológica cutânea, dias de infecção e sexo (M- machos e F- fêmeas) em felinos (<i>Felis catus</i>) infectados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> .	59
Tabela 5- Medianas de escores segundo exames subsidiários ao diagnóstico, sexo (M- macho e F- fêmeas) e dias, em felinos (<i>Felis catus</i>) infectados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> .	67
Tabela 6- Número de animais cultivo positivo em relação ao sexo, órgãos e dias após infecção, em felinos (<i>Felis catus</i>) com esporotricose experimental.	74
Tabela 7- Síndromes clínicas da esporotricose em relação ao sexo, dias e número de animais, em felinos (<i>Felis catus</i>) infectados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> .	74

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1- Evolução percentual dos principais sinais clínicos dermatológicos e sistêmicos da esporotricose, em relação ao sexo, machos (azul) e fêmeas (vermelho), e semanas de infecção em gatos (<i>Felis catus</i>) inoculados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> .	45
Figura 2- Evolução das lesões clínico-dermatológicas em felinos (<i>Felis catus</i>) inoculados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> . a- Nódulo eritematoso, subcutâneo, de consistência variável, indolor e móvel ao sétimo dia de infecção; b- Nódulo ulcerado, fixo e exsudativo ao 15º dia de infecção; c- Tumor de bordas elevadas e centro necrótico e ulcerado, com intensa exsudação purulenta ao 30º dia de infecção; d- Tumor elevado encimado por crostificação hemato-melicérica em aspecto vegetante ao 30º dia de infecção; e- Transformação gomosa a partir da lesão tumoral ao 40º dia de infecção; f- Foco sobre goma, descrita na lesão anterior.	46
Figura 3- Representação gráfica dos diâmetros lesionais (cm) em relação à semana de infecção e sexo em felinos (<i>Felis catus</i>), inoculados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> .	48
Figura 4- Percentual das principais alterações dermatopatológicas epidérmicas em felinos machos (azul) e fêmeas (vermelho) em relação aos dias, em gatos (<i>Felis catus</i>) inoculados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> .	52
Figura 5- Percentual das principais alterações dermatopatológicas (dermais e subcutâneas) em relação ao sexo, machos (azul) e fêmeas (vermelho), e dias de infecção, em gatos (<i>Felis catus</i>) inoculados experimentalmente com <i>Sporothrix schenckii</i> .	53

- Figura 6-** Intensa inflamação centrada no tecido subcutâneo e na derme reticular ao 15^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) inoculados experimentalmente com *Sporothrix schenckii* (H&E-10X). 54
- Figura 7-** Intensa inflamação piogranulomatosa no tecido subcutâneo, circundando inúmeras células fúngicas, ao 15^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) inoculados experimentalmente com *Sporothrix schenckii* (H&E-50X). 54
- Figura 8-** Avaliação do tecido subcutâneo demonstrando um centro supurativo (esquerda) associado a inúmeros macrófagos epitelióides e células fúngicas pleomórficas ao 15^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E- 100X). 55
- Figura 9-** Transição dermosubcutânea ao 15^o dia de infecção, demonstrando um infiltrado misto linfoplasmocítico e granulomatoso, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *Sporothrix schenckii* (H&E- 100X). 55
- Figura 10-** Intensa inflamação na derme papilar e reticular ao 30^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *Sporothrix schenckii* (H&E- 100X). 56
- Figura 11-** Presença de edema, degeneração colágena e intenso infiltrado inflamatório linfocítico e piogranulomatoso na derme, ao 30^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *Sporothrix schenckii* (H&E- 100X). 56
- Figura 12-** Acantose, degeneração de ceratinócitos basais, incontinência pigmentar e exocitose epidérmica associada a intensa inflamação na derme papilar, ao 30^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E-100X). 57
- Figura 13-** Numerosas células fúngicas pleomórficas, íntegras, livres e fagocitadas, ao 15^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E- 250X). 60

- Figura 14-** Numerosas células fúngicas ao 15^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) inoculados experimentalmente com *Sporothrix schenckii*, apresentando **(a)** corpo celular basofílico e envoltos por um halo claro em P.A.S. (100X) e **(b)** células fúngicas coradas pela prata (GOMORI, 100 X). **6 0**
- Figura 15-** Numerosas células fúngicas pleomórficas e íntegras no interior de fagócitos ao 30^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) inoculados experimentalmente com *Sporothrix schenckii* (H&E- 250X). **6 1**
- Figura 16-** Numerosas Células fúngicas íntegras e pleomórficas isoladas ou em brotamento simples ao 30^o dia de infecção experimental coradas pelo **(a)** P.A.S. (100X) e **(b)** GOMORI (100 X). **6 1**
- Figura 17-** Intenso infiltrado granulomatoso e Infocítico e escassas células fúngicas ao 60^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E- 250X). **6 2**
- Figura 18-** Discreta quantidade de células fúngicas ao 60^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) inoculados experimentalmente com *Sporothrix schenckii* (P.A.S.- 250X). **6 2**
- Figura 19-** Exame citopatológico demonstrando intenso infiltrado inflamatório associado à presença de hemácias e fibrina ao 15^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (Panóptico- 50X). **6 4**
- Figura 20-** Numerosas células fúngicas fagocitadas, íntegras, pleomórficas e envoltas por um halo claro, associadas a um infiltrado piogranulomatoso ao 15^o dia de infecção experimental (Panóptico- 250X). **6 4**
- Figura 21-** Numerosas células fúngicas íntegras, pleomórficas, fagocitadas, isoladas ou em brotamento simples ao 15^o dia de infecção experimental (Panóptico- 400X). **6 5**
- Figura 22-** Escassas células fúngicas íntegras e degeneradas associadas a um infiltrado piogranulomatoso ao 60^o dia de infecção experimental (Panóptico- 250X). **6 5**

- Figura 23-** Cultivo fúngico em ágar Sabouraud do exsudato a partir do tecido de felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *Sporothrix schenckii* demonstrando: **(a)** uma colônia inicial de cor creme e fortemente aderida **(b)** hifas finas e septadas compostas por esterigmas e inúmeros conídios sob um conidióforo (Azul-algodão- 250X). **66**
- Figura 24-** Avaliação histológica do linfonodo submandibular apresentando hiperplasia dos folículos corticais ao 30^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E, 05X). **70**
- Figura 25-** Avaliação histológica esplênica demonstrando hiperplasia de polpa branca e congestão ao 30^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *Sporothrix schenckii* (H&E, 10X). **70**
- Figura 26-** Avaliação histológica hepática demonstrando discreta inflamação periportal e intensa esteatose ao 30^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E, 33X). **71**
- Figura 27-** Avaliação histológica renal demonstrando intensa degeneração hidrópica tubular renal ao 30^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E, 50X). **71**
- Figura 28-** Avaliação histológica renal apresentando discreta glomerulonefrite associada a degeneração tubular renal ao 30^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E, 80X). **72**
- Figura 29-** Avaliação histológica pulmonar apresentando hiperreatividade peribroquial ao 30^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E, 80X). **72**

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

⁰ C	= graus Celsius
cm	= centímetro
F	= Fêmea
H&E	= Coloração histoquímica Hematoxilina e eosina
M	= Macho
P.A.S.	= Coloração histoquímica Ácido periódico de Schiff
ml	= mililitro
mm	= milímetro
p <	= probabilidade menor que
PBS	= Solução tampão
<i>S. schenckii</i>	= <i>Sporothrix schenckii</i>
%	= por cento
°	= grau

1. INTRODUÇÃO

A esporotricose é uma infecção micótica, geralmente restrita ao tecido subcutâneo e linfático adjacente, de evolução subaguda a crônica, causada pelo *Sporothrix schenckii*, um fungo dimórfico, saprófita do solo e de distribuição cosmopolita (Donadel et al., 1993; Randhawa et al., 1994). Esta enfermidade ocorre com maior frequência em zonas de clima tropical e subtropical (Donadel et al., 1993; Marques et al., 1993; Sampaio et al., 2000) acometendo à espécie humana e várias espécies de animais domésticos e silvestres (Donadel et al., 1993; Marques et al., 1993; Werner & Werner, 1993).

Clinicamente, a esporotricose caracteriza-se por uma diversidade de lesões que variam desde uma síndrome cutânea fixa à sistêmica disseminada. Este fato, bem como a regressão ocasional espontânea da doença, denota a heterogeneidade da resposta do hospedeiro (Ruiz & Carvajal, 1986).

Um aumento da frequência de ocorrência da esporotricose felina nos últimos anos tem sido documentada, sendo o potencial antroponozoonótico desta infecção relatada por diversos autores (Read & Sperling, 1982; Dunstan et al., 1986; Larsson et al., 1989; Zamri-saad et al., 1990; Marques et al., 1993; Werner & Werner, 1993; Farias et al., 1995, Andrade et al.,

1999). Outras peculiaridades inerentes à esporotricose nesta espécie são o aparecimento preferencial em felinos machos e adultos (Davies & Troy, 1996), a intensa quantidade de microrganismos fúngicos no tecido, no exsudato e fezes dos animais infectados (Dunstan et al., 1986; Moriello et al., 1989; Gross et al., 1992; Werner & Werner, 1993; Marques et al., 1993; Yager & Wilcock, 1994; Farias et al., 1995), além da propensão à disseminação sistêmica da infecção a partir da lesão cutânea primária, sem associação direta com distúrbios imunodepressores ou terapia imunossupressora (Kier et al., 1979; Dunstan et al., 1986; Rosser, 1993; Werner & Werner, 1993; Scott et al., 1995; Davies & Troy, 1996).

Adicionalmente, a esporotricose felina pode mimetizar outras infecções granulomatosas e neoplasias cutâneas, sendo imprescindível, para o estabelecimento de um diagnóstico definitivo, recorrer ao uso de exames subsidiários, como o citopatológico, histopatológico, imunofluorescência direta, cultivo e identificação fúngica (Dunstan et al., 1986; Lappin, 1993; Werner & Werner, 1993; Scott et al., 1995).

No estudo das micoses, associado ao isolamento e identificação do agente, a clarificação das formas parasitárias dos microrganismos dentro dos tecidos é extremamente importante para o entendimento de seus mecanismos etiopatogênicos, à medida que estas são determinadas pela inter-relação entre o parasita e o hospedeiro, representando a expressão final dos mecanismos de defesa contra a infecção (Hiruma et al., 1992).

Desta forma este trabalho teve a finalidade de promover:

- Uma avaliação da esporotricose felina, observando sua evolução clínica, seu potencial de disseminação cutânea, extracutânea e remissão espontânea;
- Averiguação das formas parasitárias teciduais do *S. schenckii* e a resposta inflamatória que acompanha a infecção, objetivando uma melhor compreensão das particularidades do processo etiopatogênico da esporotricose de ocorrência natural nesta espécie. e dos
- Uma avaliação dos fatores que colaboram para seu potencial zoonótico da esporotricose felina.
- Uma avaliação da sensibilidade e da qualidade da amostra obtidas através de citologia aspirativa por agulha fina no diagnóstico da esporotricose felina experimental.
- Uma comparação da sensibilidade diagnóstica dos exames citopatológico, histopatológico e cultivo e identificação fúngica, nas várias fases de evolução da esporotricose felina experimental.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Definição e etiologia

A esporotricose é uma infecção micótica granulomatosa, de evolução subaguda a crônica, geralmente restrita ao tecido cutâneo, subcutâneo e linfático adjacente (Donadel et al.,1993; Randhawa et al., 1994). O primeiro caso comprovado de esporotricose humana foi descrito por Schenck, nos Estados Unidos, em 1898 (Grekin, 1984), sendo todas as formas de esporotricose causadas por uma única espécie, o *Sporothrix schenckii* (Donadel et al.,1993).

O *Sporothrix schenckii* é um fungo de reprodução sexuada, dimórfico, que se desenvolve sob a forma leveduriforme a 37⁰C e sob a forma micelial à temperatura ambiente (Cruz et al., 1985). Este agente é capaz de viver de forma saprófita em vegetais, detritos de plantas e no solo rico em matéria orgânica, tendo sido isolado do feno, da palha, espinhos de roseira, plantas e arbustos espinhosos, plantas de berbéro, mofo de esfangínea, cana-de-açúcar, espinho de cactos, espículos de aveia, espigas de milho, grama, tulipas, cogumelos, batata, bambú, cravo, cascas de árvore e musgos (Donadel et al.,1993). Adicionalmente o *Sporothrix schenckii* foi isolado como contaminante da água, da cavidade orofaríngea, pêlos e unhas de animais (Donadel et al.,1993).

2.2. Epidemiologia

A esporotricose apresenta distribuição mundial, sendo a micose profunda de maior prevalência mundial em humanos (Donadel et al.,1993) e de maior frequência de ocorrência em algumas áreas urbanas (Castro & Salabian, 1989; Sampaio et al., 2000). Sua incidência é maior em regiões de clima tropical e temperado (Donadel et al.,1993; Marques et al, 1997; Sampaio et al., 2000), havendo atualmente, maior descrição de casos na zona centro-sul do continente americano, na África e Japão (Donadel et al.,1993).

O *Sporothrix schenckii* não é capaz de penetrar a pele intacta, sendo a infecção adquirida principalmente pelo implante traumático que ocorre em pequenos cortes, abrasões e puntura com material contaminado, ou contaminação de soluções de continuidade, que permitem ao fungo atingir camadas cutâneas mais profundas (Donadel et al.,1993).

A infecção tem sido descrita em humanos e em grande variedade de espécies animais domésticas e silvestres (Werner & Werner, 1993). Em Medicina Veterinária, casos de esporotricose no Brasil foram descritos em muare (Piratininga, 1943; Moreira et al., 1967), em asininos (Moreira et al., 1967), em bovinos (Macedo & Costa, 1978), em chimpanzés (Saliba et al., 1968), em caninos (Migliano et al., 1963/64; Londero et al., 1964; Nahas et al., 1993; Brustein et al.,1999) e em felinos (Freitas et al., 1965; Larsson et

al., 1989; Larsson et al., 1993; Marques et al., 1993; Farias et al., 1995; Nogueira et al., 1995; Andrade et al.,1999; Brustein et al.,1999). Os casos descritos, estão restritos à região Sudeste, sendo os estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais aqueles com maior número de registros.

Uma maior incidência da esporotricose felina foi descrita nos últimos anos (Kier et al., 1979; Dunstan et al., 1986; Wigney & Oxenford,1993; Kennis et al., 1994; Nakamura et al., 1996), tendo sido considerada a quarta infecção micótica profunda mais comum nos Estados Unidos (Davies & Troy, 1996). No Brasil, a esporotricose é a principal infecção micótica profunda em felinos, pertencendo à literatura nacional as maiores coleções de casos diagnosticados em um curto período: oito casos em 18 meses (Freitas et al.,1965) e 12 casos em 27 meses (Brustein et al.,1999).

A disseminação da infecção entre felinos parece estar relacionada a seus hábitos de penetrar por entre ninhos e frestas de materiais descartados, esfregar-se no solo, em cascas de árvores, e por arranhões ou mordidas, devido a brincadeiras e brigas com outros gatos (Read & Sperling,1982; Larsson et al., 1989; Farias et al.1997). Os felinos machos não castrados são mais comumente acometidos, tendo geralmente faixa etária inferior a quatro anos de idade e livre acesso à rua. Este fato decorre da natureza geofílica do fungo e maior exposição a mordidas e arranhaduras, por conflitos territoriais e pelas fêmeas (Restrepo et al., 1986; Donadel et al.,1993; Scott et al.,1995; Davies & Troy, 1996; Farias et al., 1997). Uma maior incidência da

enfermidade foi relatado na raça siamesa, em relação a sua população de atendimento hospitalar (Davies & Troy, 1996).

Em cães não ocorre predisposição etária ou sexual para a esporotricose, entretanto esta é mais comumente observada em animais destinados à caça (Scott et al.,1995).

Em humanos, a esporotricose acomete pessoas de qualquer raça ou idade e embora seja considerada rara na infância, no Brasil isso não é verificado. Em relação ao sexo, esta infecção é mais comumente no homem adulto por sua exposição ocupacional e recreacional (Donadel et al.,1993), entretanto, alguns relatos no Brasil e no México, diferentemente do que ocorre em outras infecções micóticas, há nítido predomínio do acometimento de mulheres (Donadel et al.,1993). Em humanos a esporotricose é considerada uma dermatose ocupacional, peculiar a algumas atividades profissionais que lidam com o solo e vegetais, como floristas, agricultores, jardineiros, horticultores, silvicultores, engenheiros agrônomo e florestal (Marques et al., 1993).

2.3. Aspectos antropozoonóticos

Casos de esporotricose humana a partir da mordedura, arranhadura ou picada de animais carregadores assintomáticos do fungo na cavidade orofaríngea, bicos e unhas têm sido comumente descritos (Donadel et al., 1993).

O primeiro caso de transmissão da esporotricose animal, de ocorrência natural, para o ser humano foi descrito por Read & Sperling (1982) a partir da infecção felina. Desde então sucessivos casos têm sido descritos em diversos países (Nusbaum et al., 1983; Dunstan et al., 1986; Zamri-saad et al., 1990; Rafal & Rasmussen, 1991; Kelly & Clark, 1991) e no Brasil (Larsson et al., 1989; Marques et al., 1993; Nogueira et al., 1995; Farias et al., 1995; Andrade et al., 1999). Em recente estudo desenvolvido pela Faculdade de Medicina de Botucatu (SP) a transmissão da esporotricose felina para o ser humano foi responsável por 7,5% de 53 casos de esporotricose diagnosticados entre 1976 e 1995 (Marques et al., 1997). Epidemiologicamente, Médicos Veterinários, proprietários, pessoal auxiliar e estudantes têm sido acometidos (Read & Sperling, 1982; Dunstan et al., 1986; Lappin, 1993; Marques et al., 1993; Werner & Werner, 1993;).

O contágio da espécie humana tem-se restrito à infecção felina (Dunstan et al., 1986), estando presumivelmente relacionado à copiosa quantidade de microrganismos fúngicos presentes no tecido e no exsudato

dos gatos infectados (Dunstan et al., 1986; Lappin, 1993; Marques et al., 1993; Werner & Werner, 1993). Porém, talvez esta não seja a única razão, pois grande número de células fúngicas foram também visualizados no tecido e exsudato de um cão com esporotricose, não ocorrendo, entretanto, transmissão para as pessoas que o manipularam (Moriello et al., 1988).

O quadro clínico, histológico e micológico da esporotricose humana adquirida a partir da infecção felina não difere de sua forma clássica (Marques et al., 1993) e a transmissão se estabelece por meio de arranhadura, mordedura, contaminação de solução de continuidade cutânea, ou contato direto da pele levemente irritada, com lesões ulceradas e exsudativas de gatos infectados (Dunstan et al., 1986). Microrganismos fúngicos têm sido observados nas fezes de gatos acometidos, havendo risco de inalação e desenvolvimento da esporotricose extracutânea em hospedeiros imunocomprometidos (Dunstan et al., 1986; Lappin, 1993).

2.4. Aspectos clínicos

As manifestações clínicas da esporotricose são polimórficas, podendo esta ser classificada em cutânea fixa, linfocutânea, cutânea disseminada e extracutânea (pulmonar primária e sistêmica) (Rafal & Rasmussen, 1991; Donadel et al.,1993; Sampaio et al., 2000), sendo a forma que assume a doença provavelmente determinada pela resposta imunológica do hospedeiro (Donadel et al.,1993).

A síndrome cutânea fixa caracteriza-se por lesões nodulares, de bordas elevadas, centro necrótico-ulcerado, crostificação e exsudação purulenta (cancro-esporotricótico), podendo se apresentar ainda nas formas de pápula ou placa infiltrada, pápulo-tuberosa, túbero-nodular, verrucosa, ulcerosa, macular, acnéica, erupção descamativa, abscedativa, celulite e furunculóide (Rafal & Rasmussen, 1991; Donadel et al.,1993; Marques et al., 1993; Sampaio et al., 2000).

A síndrome cutâneo-linfática caracteriza-se pela difusão do microrganismo fúngico para o sistema linfático adjacente, produzindo cadeia de nódulos subcutâneos firmes, que aumentam, flutuam e às vezes ulceram, podendo haver aumento dos linfonodos regionais, com ou sem supuração (Rafal & Rasmussen, 1991; Donadel et al.,1993; Marques et al., 1993; Sampaio et al., 2000).

Na forma cutânea disseminada, múltiplas lesões de aspecto variável distribuem-se pelo tegumento, sendo geralmente associada ao comprometimento do estado geral do paciente (Rafal & Rasmussen, 1991; Cullen et al., 1992; Donadel et al., 1993; Ticoras et al., 1996; Sampaio et al., 2000).

Na esporotricose extracutânea pode ocorrer o comprometimento de um ou mais órgãos, havendo relatos, em humanos, do acometimento pulmonar, articular, ósseo, do globo ocular, sistema nervoso central e periférico, testículos, epidídimo, glândula mamária, fígado, pâncreas, baço, miocárdio, pâncreas, tireóide, rins, seios da face e sistema digestivo (Brunette & Stulting, 1992; Cartwright et al., 1993; Donadel et al., 1993). As formas cutânea disseminada e extracutânea foram em humanos, associadas a terapia imunossupressora, transplantes ou decorrentes de doenças debilitantes como cirrose, carcinoma hepatocelular, tuberculose, diabetes, câncer, sífilis, alcoolismo, doenças linforreticulares, e a síndrome da imunodeficiência adquirida (Donadel et al., 1993; Agarwal et al., 1994; Bolao et al., 1994; Kumar et al., 1994; Vasen et al., 1996; Al-tawfiq & Wools, 1998).

Em seres humanos, a forma mais comum de esporotricose é a linfocutânea, seguida da cutânea fixa, disseminada e sistêmica (Donadel et al., 1993).

Nas espécies canina e felina, as lesões geralmente se distribuem pela face, porção externa do pavilhão auricular, porção distal dos membros, base

da cauda e tronco (Dunstan e al., 1986; Rosser, 1993; Scott et al., 1995). Em cães, as formas cutânea fixa, cutânea disseminada e linfocutânea são, respectivamente, as mais freqüentemente relatadas (Moriello et al., 1987; Rosser, 1993; Scott et al., 1995), sendo a forma extracutânea raramente observada (Goad & Goad., 1986; Rosser, 1993; Scott et al., 1995). Em felinos, as formas cutânea fixa e cutânea disseminada são comumente relatadas, devido a auto-inoculação do fungo além da área de lesão primária (Scott et al., 1995; Davies & Troy, 1996). Embora os gatos aparentem ter somente lesões de âmbito dermatológico, muitos animais apresentam evidência à necropsia de comprometimento de linfonodos, vasos linfáticos e múltiplos órgãos internos, o que pode sugerir um potencial de disseminação sistêmica da doença a partir da lesão cutânea primária (Kier et al., 1979; Dunstan et al., 1986; Rosser, 1993; Werner & Werner, 1993; Scott et al., 1995; Davies & Troy, 1996). Estes animais podem apresentar-se anoréticos, letárgicos e febris (Dunstan et al., 1986; Scott et al., 1995), entretanto, em sua maioria não há sinais clínicos de envolvimento sistêmico (Dunstan et al., 1986). Embora o imunocomprometimento possa colaborar para a disseminação sistêmica da esporotricose em felinos, a associação desta com o vírus da leucemia felina e outras causas específicas de imunossupressão tem sido raramente observada (Dunstan et al., 1986; Werner & Werner, 1993; Davies & Troy, 1996).

2.5. Avaliação clínica da infecção experimental

O comportamento experimental do *S. schenckii* tem sido avaliado macroscópica e histologicamente em várias espécies animais como ratos, camundongos, coelhos, hamsters e gatos (Read & Sterling, 1982), com o intuito de se observar a evolução clínica das lesões cutâneas, as formas parasitárias do microrganismo dentro dos tecidos, a resposta imunológica do hospedeiro, seu potencial de disseminação e remissão. O rato (Barbee et al., 1977) e o hamster (Read & Sterling, 1982) foram considerados os mais suscetíveis animais de laboratório. A inoculação subcutânea no hamster (Mariat & Drouhet, 1954) e em gatos (Barbee et al., 1977) pode produzir uma doença similar a observada em humanos, e investigações em camundongos produziram resultados variáveis. O coelho parece ser o mais resistente de todos os animais de laboratório (Braude et al., 1960).

Em hamster inoculados subcutaneamente com *S. schenckii* no focinho, os primeiros sinais clínicos de infecção foram edema e eritema no local do inóculo, observados ao nono dia em 100% dos animais. No 12º dia, necrose e alopecia foram observadas, seguidos de exsudação purulenta no 21º dia, e ulceração no 25º dia em todos os animais. Nódulos foram formados nas patas em sete animais (26%), sendo confirmado se tratarem de metástases da infecção por cultivo em três deles (13%). Cultivo positivo a partir das lesões do focinho foram obtidos a partir do sétimo dia. Cultivo do

triturado de baço e fígado foram negativos em todos os animais (Gonzáles de polanía et al., 1990).

Peng-cheng et al.(1993) observaram que camundongos normais desenvolveram lesões nodulares de três a quatro milímetros na primeira semana após a inoculação intracutânea do *S. schenckii*, apresentando regressão a partir da terceira semana e resolução quase total até a 10^a semana. Triturados das lesões, apresentaram cultivo positivo até a sexta semana. Nenhuma metástase cutânea e extracutânea da infecção foi evidenciada. Em camundongos atímicos congenitamente, lesões nodulares de dois a três milímetros foram formadas na primeira semana após a inoculação e ulceraram na segunda semana. Não houve regressão das lesões até a 11^a semana de observação. Lesões metastáticas foram percebidas na cauda em dois animais (20%), sendo obtido, a partir das lesões, em todos os momentos, cultivo positivo

Mcdonald et al. (1980), demonstraram que 25% dos gatos inoculados com *Sporothrix schenckii* tiveram resolução espontânea da doença. Em outro estudo, usando felinos como modelo de infecção experimental, Barbee et al. (1977) induziram esporotricose em 18 de 20 gatos adultos, de ambos os sexos, usando uma suspensão de leveduras de *S. schenckii* inoculada em um dos coxins plantares dos animais. Uma lesão nodular desenvolveu-se no local primário da inoculação cinco semanas após a injeção, ulcerando-se em seguida e difundindo-se secundariamente aos vasos linfáticos adjacentes e

linfonodos satélites. Cultivo positivo do *S. schenckii* foi obtido a partir das lesões (primárias e secundárias) e linfonodos, durante o curso da infecção e na ocasião da necropsia. Fragmentos de múltiplas vísceras, na ocasião da necropsia, foram submetidos ao cultivo fúngico, sendo este positivo em 50% dos casos, embora lesões macroscópicas fossem observadas somente em um animal, o que demonstra o provável potencial de disseminação sistêmica da esporotricose nesta espécie. Neste estudo, a avaliação histopatológica das lesões e da resposta imunológica do hospedeiro induzidas pelo *S. schenckii* não foram realizadas.

2.6. Avaliação histopatológica e da resposta imunológica ao *Sporothrix schenckii*.

Histologicamente, as lesões cutâneas da esporotricose e a demonstração dos elementos fúngicos em cortes histológicos teciduais são variáveis, dependendo do estado imunológico do hospedeiro e espécie considerada. Geralmente observa-se uma epiderme acantótica, ulcerada, com crostas e exsudação variável. Abscessos intra-epidérmicos são freqüentemente achados na epiderme hiperplásica. Um infiltrado inflamatório é percebido em toda derme e, às vezes, no panículo, que mostra uma zona central supurativa, composta por neutrófilos, circundada por uma zona tuberculóide de células epitelióides e células gigantes, e uma zona periférica, composta por linfócitos e plasmócitos (Peng cheng et al., 1993).

Em felinos com esporotricose de ocorrência natural, a epiderme é acantótica, podendo ser ulcerada, havendo variável exsudação, crostificação e pustulação. Uma intensa inflamação composta por macrófagos e alguns neutrófilos, intermediados por linfócitos e ocasionais plasmócitos, em um padrão nodular a difuso, é visto na derme superficial e profunda. O que diferencia marcantemente a esporotricose felina das outras espécies é a abundante quantidade de microrganismos fúngicos, os quais são facilmente vistos, mesmo em colorações histoquímicas de rotina, como a hematoxilina-eosina (H&E) (Moriello et al., 1989; Gross et al., 1992; Werner & Werner.,

1993; Yager & Wilcock, 1994). Em H&E as células fúngicas são pleomórficas, com corpos celulares pequenos, medindo entre 3 a 5µm e envoltos por um halo claro (devido a retração da parede celular), podendo estar no interior de vacúolos nos fagócitos ou livres no tecido (Yager & Wilcock, 1994). Corpúsculos asteróides (fenômeno de Splendore-Hoeppli) como descritos nas lesões humanas não é um achado freqüente (Yager & Wilcock, 1994). Quando corados pelo ácido periódico de Schiff (P.A.S.), mostram corpo celular basofílico, halo claro e rima periférica vermelha. Corados pela prata metenamina de Gomori, evidenciam-se formas em naveta, formas arredondadas com brotamento simples, claviformes e outros com brotamentos arredondados (Marques et al., 1993).

A resposta do hospedeiro à esporotricose foi avaliada em estudos histopatológicos seriados, a partir da inoculação do *S. schenckii* intracutânea em camundongos normais e imunologicamente deficientes por Hachisuka & Sasai (1981) e Dickerson et al., (1983), sendo demonstrado um importante papel mediado pelas células T na resposta imunológica à infecção.

Miyaji & Nishimura (1982) e Shiraishi et al (1992) sugeriram que a ativação de macrófagos por linfócitos T são essenciais para os mecanismos de resistência à infecção.

Um importante papel da NADPH-oxidase e mieloperoxidase no metabolismo oxidativo e atividade fungicida dos neutrófilos e macrófagos na esporotricose foi demonstrado por Ramos Zepeda et al. (1986).

Kindara & Fukushiro (1982) classificaram a apresentação tecidual das células fúngicas na esporotricose em quatro categorias: a) corpúsculo asteróide; b) microrganismos fúngicos livres; c) elementos fúngicos no interior de macrófagos ou células gigantes; d) hifas.

Hiruma et al. (1992), estudando pacientes humanos com esporotricose, concluíram que: **a-** células fúngicas foram inicialmente circundadas e fagocitadas por neutrófilos; **b-** Células gigantes fagocitavam ambos, tanto células fúngicas como neutrófilos; **c-** células fúngicas nos tecidos eram viáveis e freqüentemente se multiplicavam no interior de macrófagos e células gigantes; **d-** existe uma participação importante dos neutrófilos na formação de corpúsculos asteróides e, **e-** células fúngicas observadas eram principalmente arredondadas e ovaladas, ou na forma de corpúsculos asteróides, encontrando-se freqüentemente fagocitadas e esporadicamente livres no tecido. Desta forma, foi creditado aos neutrófilos um importante papel nos mecanismos de defesa contra a esporotricose, sendo as primeiras células a serem mobilizadas, e responsáveis pela fagocitose e fragmentação dos microrganismos fúngicos. Secundariamente, observa-se um infiltrado de macrófagos e células gigantes, entretanto o *S. schenckii* mostra-se resistente à sua atividade fungicida, na medida em que

elementos fúngicos intactos e em brotamento são observados no interior destes. Tais células agem com o intuito de formar um granuloma, na tentativa de funcionar como uma barreira para o microrganismo, e são responsáveis pela cronificação da infecção.

Avaliação histopatológica desde os estágios iniciais até a 11^a semana após a inoculação do *S. schenckii* intracutânea em camundongos normais e atímicos congenitamente, foi feita por Peng-cheng et al. (1993). Em camundongos normais, numerosos neutrófilos foram observados seis horas após a inoculação, formando microabscessos e levando a fragmentação dos elementos fúngicos após 24 horas. De cinco a sete dias, alguns microabscessos foram circundados por histiócitos e linfócitos com escassas células gigantes. Os elementos fúngicos, na terceira semana, foram numerosos, mas fragmentados, e finalmente desapareceram na quinta semana, coincidindo com uma rápida diminuição no número de neutrófilos. Histiócitos diminuíram na nona semana. Em camundongos atímicos congenitamente, com deficiência na imunidade celular mediada, o número de neutrófilos, histiócitos, a formação de microabscessos e do granuloma foram similares aos de camundongos normais. Entretanto, fagocitose e fragmentação de elementos fúngicos não foram observados. Os microrganismos fúngicos inicialmente se localizavam no interior dos microabscessos, porém depois se difundiram para o interior do granuloma. A acumulação de neutrófilos permaneceu durante todo período teste, não

sendo observada a presença de células gigantes e regressão das lesões. Este estudo demonstrou um importante papel dos neutrófilos nos mecanismos de defesa inicial contra a esporotricose, sendo estes responsáveis pela fagocitose e fragmentação dos blastosporos e colaborando para a cicatrização das lesões. Entretanto, esta atividade se encontra deprimida em camundongos com deficiência na imunidade celular mediada.

2.7. Avaliação citopatológica

O exame citopatológico, a partir das lesões dermatológicas desenvolvidas na esporotricose, tem-se mostrado um importante método de triagem, capaz de estreitar a lista de diagnósticos diferenciais e conduzir o clínico em seu plano diagnóstico (Dunstan et al., 1986; Lappin, 1993; Werner & Werner, 1993; Scott et al., 1995). Adicionalmente, este exame apresenta um baixo custo, os procedimentos para sua realização são simples e rápidos, permitindo sua realização ambulatorialmente (Scott et al., 1995).

As amostras para o exame citopatológico podem ser obtidas por impressão, a partir do exsudato, ou por aspirado com agulha fina da lesão, devendo ser fixadas e logo após coradas. A coloração de escolha, e mais usual na prática clínica, é o *Wright* modificado. Esta coloração do tipo Romanovsky, apesar de não fornecer detalhes nucleares, oferece melhor

diferenciação de estruturas citoplasmáticas e microrganismos (Scott et al., 1995).

O exame citopatológico na esporotricose geralmente revela uma inflamação supurativa, piogranulomatosa ou granulomatosa. As células fúngicas são numerosas e facilmente encontrados na esporotricose felina, apresentado-se como leveduras pleomórficas (arredondadas, ovaladas ou em forma de naveta), medindo de dois a 10µm, circundadas por um halo claro, livres ou fagocitadas (Dunstan et al., 1986; Lappin, 1993; Werner & Werner, 1993; Scott et al., 1995).

Em todas as amostras observadas por Davies & Troy (1996) e Brustein et al. (1999), o exame citopatológico subsidiou o diagnóstico de esporotricose, o qual foi posteriormente confirmado pelo cultivo fúngico.

2.8. Avaliação do cultivo e identificação fúngica

O cultivo e identificação fúngica é o método definivo de diagnóstico da esporotricose. O exsudato, colhido por zaragatoa estéril a partir das lesões ou fragmentos de biopsia de pele pode ser encaminhado para o cultivo (Dunstan et al., 1986; Lappin, 1993; Werner & Werner, 1993; Scott et al., 1995; Brustein et al. (1999).

O *S. schenckii* é um fungo dimórfico que, quando cultivado em meios enriquecidos (ágar cérebro-coração) e incubado a temperatura constante de

37°C, forma leveduras pleomórficas ou quando cultivado em ágar Sabouraud, à temperatura ambiente, o crescimento é micelial. Neste caso, há formação de uma película enrugada, aderente ao meio de cultura, resistente, formando às vezes micélio aéreo. No início a colônia é de cor creme, escurecendo com a maturidade do cultivo, tornando-se marrom chocolate e logo após marrom escuro, quase negro. À microscopia, observam-se hifas finas e septadas, com pequenos conídios ovóides na extremidades de diminutos esterigmas sobre um conidióforo, em um padrão lembrando “pétalas de margarida” (Cruz, 1985; Brustein et al., 1999).

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Formação do grupo experimental

Foram utilizados 20 animais da espécie felina, adultos, com idade entre um e cinco anos, distribuídos equitativamente entre os sexos, rejeitando-se fêmeas prenhes. Todos os animais foram submetidos à exames clínico e subsidiários (hemograma e parasitológico) e previamente ao experimento, vermifugados¹. Os animais foram subdivididos em jaulas individuais na sala de isolamento do gatil da Universidade do Oeste Paulista-UNOESTE, Presidente Prudente (SP), sendo sua alimentação realizada com ração felina ², devidamente balanceada, duas vezes ao dia e a água mantida “ad libitum”.

3.2. Microrganismos fúngicos

Uma cepa de *Sporothrix schenckii*, cultivada em meio seletivo³, originada a partir de um paciente humano com diagnóstico de esporotricose cutâneo-linfática, confirmado pelo Laboratório de Micologia do Serviço de Dermatologia e Radioterapia da FM-Unesp-Botucatu (SP), foi utilizada para preparação do inóculo e indução da infecção experimental.

1- Endal (Shering Plough)

2- Whiskas (Pedigree champ)

3- ágar Sabouraud- dextrose (DIFCO)

3.3. Preparação do inóculo fúngico e averiguação de sua viabilidade.

O *S. schenckii* foi recultivado em ágar cérebro-coração⁴ e mantido em estufa à temperatura constante de 37°C, pelo Serviço de Patologia da FM-Unesp- Botucatu (SP), sendo realizado subcultivos a cada sete dias, com a finalidade de manter o fungo em estágio leveduriforme.

Uma suspensão de leveduras foi realizada em 10 ml de solução salina estéril, pH 7,4 , sendo logo após filtrada em gaze estéril para a remoção de resíduos miceliais. Uma solução (1: 10) resultante da diluição de 0,1 ml da suspensão em 0,9 ml de salina estéril foi então preparada. Para testar a viabilidade do inóculo, 0,2 ml da solução (1: 10) foi adicionada a 0,1 ml de brometo de etídio⁵ (ajustada em PBS, pH 7,2, para 50 mg/ml) e 0,1 ml de diacetato de fluoresceína⁶ (ajustada a 5mg/ml, mantida a 20°C e diluída em PBS a 1:1000), sendo incubada em estufa à temperatura constante de 37°C por 15 minutos.

A viabilidade do inóculo foi verificada sob fluorescência microscópica, sendo as células viáveis coradas em verde pelo diacetato de fluoresceína e as células mortas coradas em vermelho pelo brometo de etídio (Calish et al., 1978). Quantificou-se as blastoconídias a partir da contagem em nove

4- ágar cérebro-coração (DIFCO)

5- Brometo de etídio (SIGMA)

6- Diacetato de fluoresceína (SIGMA)

quadros de uma câmara de Neubauer, sendo mantida uma concentração do inóculo de $2,0 \times 10^6$ blastoconídios por um mililitro de solução salina.

3.4. Infecção experimental

A dose do inóculo foi previamente determinada em estudo piloto, envolvendo dois animais machos e duas fêmeas. Cada animal foi infectado a partir da aplicação subcutânea de 0,5 ml do inóculo (10^6 células fúngicas viáveis) na região frontal da face, um dos locais mais comumente envolvidos na infecção de ocorrência natural na espécie felina, sendo apenas aparados os pêlos previamente à inoculação.

3.5. Avaliação clínica

Os animais foram submetidos a exame clínico semanalmente, após a data da inoculação, por quatro semanas, descrevendo-se detalhadamente a evolução das lesões dermatológicas e alterações clínicas sistêmicas que acompanhavam à infecção. Após este período, 10 animais, divididos equitativamente entre os sexos, foram sacrificados e os 10 restantes continuaram a ser avaliados clinicamente por mais quatro semanas. A infecção experimental foi confirmada a cada duas semanas pelo cultivo fúngico, em ágar Sabouraud, realizado a partir de uma amostra do exsudato (colhido por zaragatoa estéril) da lesão dermatológica primária, pelo

Laboratório de Microbiologia da Universidade do Oeste Paulista- UNOESTE, Presidente Prudente (SP). A identificação e classificação micológica foi feita pelo Laboratório de Micologia do Serviço de Dermatologia e Radioterapia da FM-Unesp, Botucatu (SP).

3.6. Avaliação histopatológica

Após medicação pré- anestésica⁷ (dose de 0,2 mg/kg) e anestesia geral⁸ (dose de 10 mg/kg), uma biopsia por saca-bocado, de cinco milímetros de diâmetro foi colhida de cada animal da região a ser inoculada previamente ao experimento. Biopsias de pele adicionais do área de lesão foram realizadas no 15^o e 30^o dia em 20 animais (10 machos e 10 fêmeas), e em 10 animais(5 machos e 5 fêmeas) no 60^o dia após o inóculo. Os fragmentos de biopsia de cada animal foram fixados em formalina neutra a 10% e encaminhados ao Serviço de Patologia da FM- UNESP, Campus de Botucatu (SP). Estes foram incluídos em parafina e três lâminas com múltiplas sessões seriadas de cinco micra de espessura foram preparadas a partir de cada bloco, sendo coradas pela hematoxilina-eosina (H&E)⁹ , prata-metenamina de Gomori⁹ e ácido periódico de Schiff (P.A.S.)⁹.

7- Cloridrato de acepromazina 2%- (UNIVET)

8- Tiletamina e Zolazepam (VIRBAC)

9- Colorações citoquímicas (SIGMA)

Na avaliação histopatológica, em cada momento, determinaram-se as alterações dermatopatológicas e critérios de graduação (00-ausente, 01-leve, 02-moderado e 03- intenso) foram utilizados para quantificar a intensidade de cada tipo celular envolvido na resposta inflamatória à esporotricose e o número de elementos fúngicos nos vários segmentos da pele. Adicionalmente, classificou-se os elementos fúngicos quanto a suas formas de apresentação tecidual, localização (intra ou extracelulares) e viabilidade.

3.7. Avaliação citopatológica

A amostra de material para avaliação citopatológica foi obtida por método aspirativo, utilizando-se uma seringa de 10ml anexada a uma agulha fina 20 x 7 mm. A técnica consiste na introdução da agulha na área de lesão. O êmbolo da seringa é puxado com o intuito de criar pressão negativa no local da punção, a agulha é movimentada em leque para proporcionar o desprendimento de material para o interior da agulha e em seguida a pressão negativa é desfeita soltando-se o êmbolo. O conteúdo é então depositado e espalhado sobre a superfície de uma lâmina de vidro de ponta fosca, fixado em metanol e corado pelo método de *Wright* modificado¹⁰.

O exame citopatológico foi realizado em cada animal na região a ser inoculada previamente ao experimento, e após a inoculação, na segunda e

quarta semanas em 20 animais (10 machos e 10 fêmeas), e na oitava semana nos 10 animais restantes (cinco machos e cinco fêmeas).

Critérios para avaliação qualitativa do exame citopatológico foram estabelecidos, procurando-se verificar sua capacidade de demonstrar, em cada momento da infecção, a reação inflamatória associada à esporotricose, identificar o microrganismo fúngico, especificando suas formas, sua localização (intra ou extracelulares) e sua viabilidade, além de graduar (00- ausente, 01- leve, 02- moderada e 03- intensa) a intensidade dos tipos celulares envolvidos na resposta inflamatória ao *S. schenckii* e a quantidade de células fúngicas. Adicionalmente uma comparação entre a sensibilidade dos exames citopatológico, histopatológico e cultivo fúngico foi realizada ao 15^o, 30^o e 60^o dias de infecção.

3.8. Avaliação da disseminação sistêmica da esporotricose

Com a finalidade de se verificar a disseminação sistêmica da esporotricose felina, 10 animais (cinco machos e cinco fêmeas) foram sacrificados na quarta e oitava semanas, respectivamente, após a indução da infecção experimental, com o uso de superdosagem de anestesia geral¹¹ seguido de injeção letal de cloreto de potássio a 19,5%¹². Os animais foram

10- Panóptico (LABORCLIN)

11- Tiopental Sódico 2,5% (ABBOT)

12- Cloreto de Potássio 19,5% (ARISTON)

imediatamente necropsiados pelo Serviço de Patologia Veterinária da Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE, Presidente Prudente-SP. Fragmentos dos linfonodos submandibular e cervical superficial cranial, fígado, baço, rins e pulmões, colhidos assepticamente, foram triturados e semeados em ágar Sabouraud e mantidos à temperatura ambiente, sendo a identificação micológica realizada pelo Laboratório de Micologia do Serviço de Dermatologia e Radioterapia da FM- Unesp, Botucatu (SP).

Adicionalmente, fragmentos destes órgãos foram destinados à avaliação histopatológica, sendo fixados em formalina neutra a 10% e encaminhados ao Serviço de Patologia da FM-Unesp, Botucatu (SP). Estes foram emblocados em parafina e uma lâmina com múltiplas sessões seriadas de cinco micra de espessura foram preparadas a partir de cada bloco, sendo corada pela H&E.

3.9. Análise estatística

- Para o estudo das variáveis quantitativas, utilizou-se o método paramétrico para análise de medidas repetidas (ZAR, 1996).
- Para as variáveis qualitativas e semiquantitativas, nos vários momentos após à infecção, foi realizado o teste não-paramétrico de Friedman (ZAR, 1996)

4. RESULTADO

4.1. Avaliação clínica

A evolução dos principais sinais clínicos observados na esporotricose felina experimental, em machos e fêmeas, está representada na Figura 1.

Inicialmente, no local da inoculação foi observado o surgimento de uma pápula ou um pequeno nódulo eritematoso, subcutâneo, de consistência variável de firme a flutuante, indolor e móvel (Figura 2a). O quadro clínico evoluiu gradativamente para o comprometimento da epiderme, ficando esta violácea, espessada e ulcerada (Figura 2b). Gradativamente, o nódulo se tornava fixo e aumentava de tamanho. Paralelamente, uma necrose de liquefação do centro lesional foi acompanhada de ulceração (cancro esporotricótico) e intensa exsudação purulenta ou sanguíneo-purulenta que davam origem a crostas, às vezes de aspecto vegetante (Figura 2c a 2f).

Linfadenomegalia bilateral submandibular e cervical superficial cranial, sem supuração, foi freqüentemente observada (Figura 1).

Lesões satélites pápulo-crostosas ou placas papulosas, alopecicas e eritematosas, as quais evoluíam para discretas úlceras, foram verificadas em oito animais, quatro machos e quatro fêmeas, a partir da quarta semana, na base do pavilhão auricular, ponte nasal e face. Anorexia, desidratação, febre e emaciação ocorreram em três fêmeas.

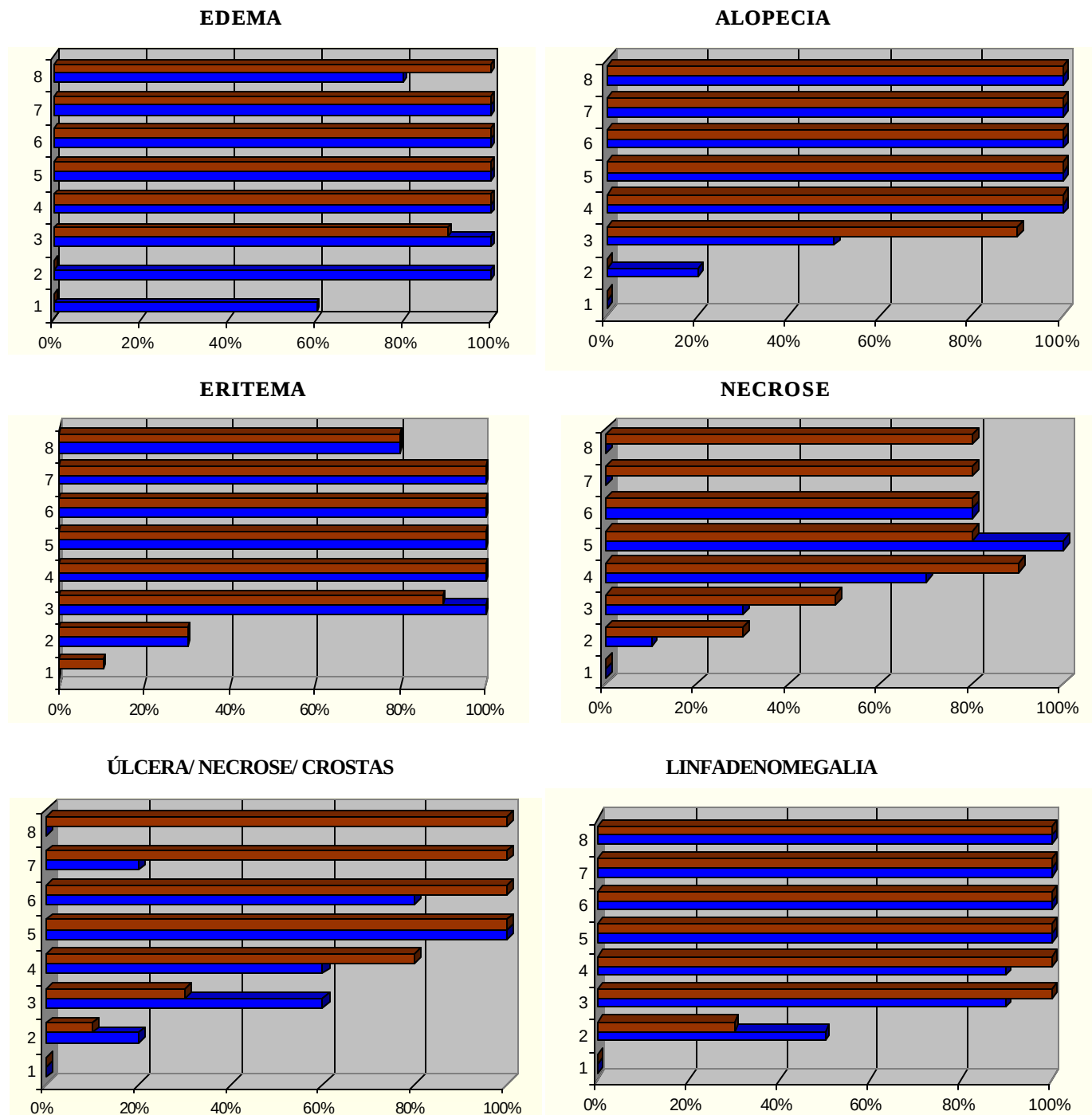


FIGURA 01. Evolução percentual dos principais sinais clínicos dermatológicos e sistêmicos da esporotricose, em relação ao sexo, machos (azul) e fêmeas (vermelho), e semanas de infecção em gatos (*Felis catus*) inoculados experimentalmente com *Sporothrix schenckii*.



FIGURA 02. Lesões dermatológicas em felinos (*Felis catus*) inoculados experimentalmente com *S. schenckii*. a- Nódulo eritematoso, subcutâneo, de consistência variável e móvel ao 7º dia de infecção; b- Nódulo ulcerado, fixo e exsudativo ao 15º dia de infecção; c- Tumor de centro necrótico-ulcerado e exsudação purulenta ao 30º dia de infecção; d- Tumor encimado por crostas hemato-melicérica em aspecto vegetante ao 30º dia de infecção; e e f- Foco sobre goma ao 40º dia de infecção.

A Tabela 1 e a Figura 3 resumem a evolução do tamanho lesional médio em relação ao tempo de observação.

Após a inoculação, o quadro clínico lesional evoluiu de forma significativa da primeira para a segunda semana em animais de ambos os sexos, havendo um crescimento gradual até a 4^a e 5^a semana. Após a estabilização, verificou-se uma involução espontânea das lesões. Em machos, diferenças significativas ocorreram entre a 7^a e 8^a semana em relação a 4^a, 5^a e 6^a semanas e nenhuma diferença foi percebida em relação à primeira semana. Nas fêmeas, diferenças significativas ocorreram entre a 8^a semana em relação a 4^a, 5^a, 6^a e 7^a semanas, e nenhuma diferença foi percebida em relação à primeira semana. Diferenças entre machos e fêmeas, em relação ao aspecto e o tamanho lesional foi percebido apenas entre as 7^a e 8^a semana.

Tabela 1- Médias dos diâmetros lesionais (cm) em relação à semana de infecção e sexo em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *Sporothrix schenckii*.

SEXO	SEMANAS							
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a
Machos	0,67 ^B _a	2,42 ^{AC} _a	2,75 ^A _a	2,92 ^A _a	2,60 ^{AC} _a	1,90 ^C _a	0,76 ^B _a	0,50 ^B _b
Fêmeas	0,70 ^b _a	1,95 ^{CD} _a	2,75 ^{AC} _a	3,20 ^A _a	2,70 ^{ACD} _a	2,60 ^{ACD} _a	1,80 ^{CD} _b	1,50 ^{BD} _b

Letras maiúsculas: para cada sexo, os diâmetros lesionais (cm) segundo semanas, seguidos de letras iguais não diferem significativamente ($P < 0,05$).

Letras minúsculas: para cada semana após a inoculação, os diâmetros lesionais (cm) segundo sexo, seguidos de letras iguais não diferem significativamente ($P < 0,05$).

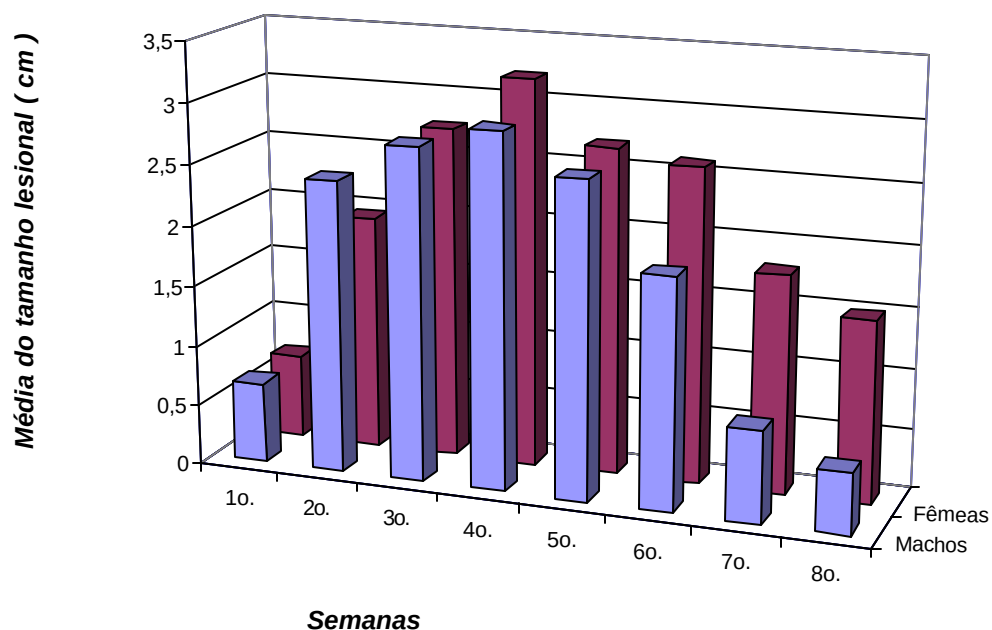


FIGURA 03. Representação gráfica dos diâmetros lesionais (cm) em relação à semana de infecção e sexo em felinos (*Felis catus*), inoculados experimentalmente com *Sporothrix schenckii*.

4.2. Avaliação dermatopatológica

As Tabelas 2 e 3 e as Figuras 4 e 5 descrevem, respectivamente, a evolução do infiltrado inflamatório no tecido cutâneo e subcutâneo, e a evolução das principais alterações dermatopatológicas observadas na esporotricose felina, em animais machos e fêmeas, infectados experimentalmente.

No 15^o dia verificou-se uma intensa inflamação, centrada no tecido subcutâneo e na derme profunda (Figura 6). O infiltrado inflamatório era composto por neutrófilos, os quais desenvolviam microabscessos no tecido subcutâneo, circundados por numerosos macrófagos e linfócitos (Figuras 7 e 8). Plasmócitos e células gigantes foram esporadicamente observados. Uma dermatite perivascular caracterizada por um infiltrado linfo-histiocitário moderado e eventuais plasmócitos foi verificada na transição entre a derme e o tecido subcutâneo (Figura 9).

No 30^o dia após a indução da infecção experimental, observou-se, no tecido subcutâneo um intenso infiltrado inflamatório de caráter piogranulomatoso e linfocítico. Uma expansão da infecção pela derme superficial e profunda foi verificada (Figura 10), sendo composta por um intenso infiltrado inflamatório linfo-histiocitário, moderada a intensa presença neutrófilos e discreto número de plasmócitos e de células gigantes. Paralelamente, foram comumente notados microabscessos, edema,

vasculite, hemorragia e degeneração de fibras colágenas em conjunto com a intensificação da inflamação (Figura 11). A epiderme mostrou-se acantótica, havendo focos de espongiose, degeneração hidrópica de ceratinócitos, incontinência pigmentar, exocitose linfocítica e neutrofílica, além de ulceração e crostificação (Figura 12).

No 60º dia, apesar de importante regressão clínica, houve persistência de diversas alterações dermatopatológicas na epiderme e na derme, sendo observados sinais de regeneração, predominantemente no tecido subcutâneo. Um infiltrado inflamatório piogranulomatoso e linfocítico intenso foi verificado na derme superficial e profunda, bem como no tecido subcutâneo.

Diferenças estatisticamente significantes não foram verificadas em relação a intensidade e tipo de infiltrado inflamatório tecidual entre machos e fêmeas, nos vários momentos de infecção.

Tabela 2- Medianas de escores do infiltrado inflamatório dérmico em relação ao sexo (M- machos e F- fêmeas) e aos dias de infecção, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *S.schenckii*.

Tipo celular	DIAS							
	00		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Linfócito	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	2,0 _a ^B	2,0 _a ^B	3,0 _a ^B	2,5 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B
Macrófago	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	2,0 _a ^B	2,0 _a ^B	2,5 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B
Neutrófilo	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	0,0 _b ^{AB}	0,0 _b ^{AB}	1,0 _b ^B	2,0 _b ^B	2,0 _a ^B	3,0 _a ^B
Plasmócito	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	0,0 _c ^A	0,0 _b ^A	0,0 _b ^A	1,0 _c ^B	0,0 _a ^A	0,0 _b ^{AB}

Escores: 0,0- ausente; 1,0-leve; 2,0-moderado e 3,0-intenso

Para o mesmo sexo- Letras maiúsculas: para cada tipo celular, escores de intensidade de células inflamatórias (representadas pelas medianas) segundo dias, seguidas de letras iguais não diferem significativamente (P<0,05).

Para o mesmo sexo- Letras minúsculas: para cada número de dias após a inoculação, escores de intensidade de células inflamatórias, representadas pelas medianas, seguidas de letras iguais não diferem significativamente (P<0,05).

Tabela 3- Medianas de escores do infiltrado inflamatório subcutâneo em relação ao sexo (M- machos e F- fêmeas) e aos dias de infecção, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *S. schenckii*.

Tipo celular	DIAS							
	00		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Linfócito	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B
Macrófago	0,0 _a ^A	0,0 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^B	2,0 _a ^B
Neutrófilo	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	2,5 _a ^B	3,0 _a ^B	3,0 _a ^A	3,0 _a ^B	3,0 _a ^A	2,0 _a ^B
Plasmócito	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	0,0 _b ^A	0,0 _b ^A	0,0 _b ^A	0,0 _b ^A	0,0 _b ^A	0,0 _a ^B

Escores: 0,0- ausente; 1,0-leve; 2,0-moderado e 3,0-intenso

Para o mesmo sexo- Letras maiúsculas: para cada tipo celular, escores de intensidade de células inflamatórias (representados pelas medianas) segundo dias, seguidas de letras iguais não diferem significativamente (P<0,05).

Para o mesmo sexo- Letras minúsculas: para cada número de dias após a inoculação, escores de intensidade de células inflamatórias, representadas pelas medianas, seguidas de letras iguais não diferem significativamente (P<0,05).

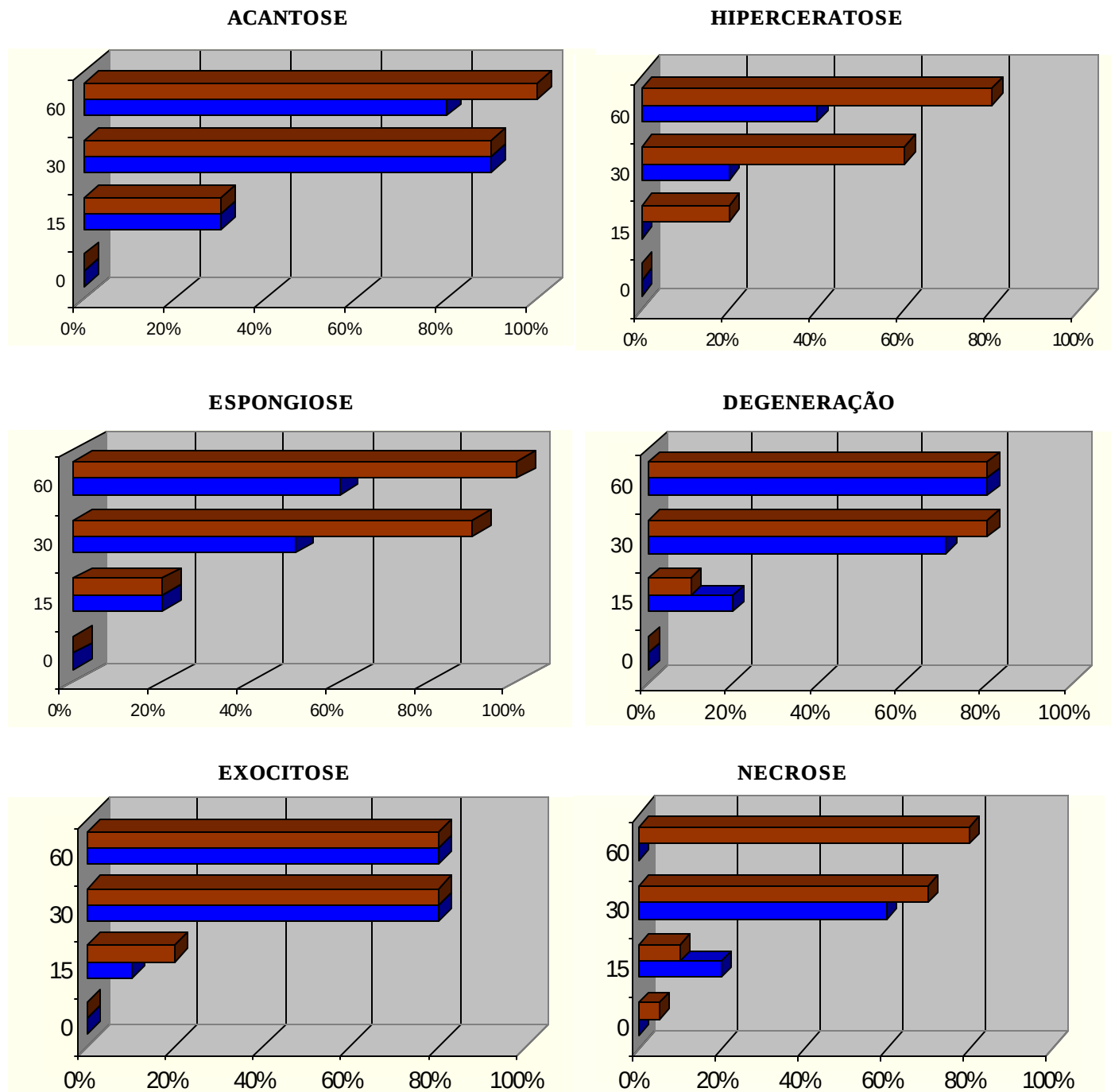


FIGURA 04. Percentual das principais alterações dermatopatológicas epidérmicas em relação ao sexo, machos (azul) e fêmeas (vermelho), e aos dias após inoculação, em gatos (*Felis catus*) com esporotricose experimental.

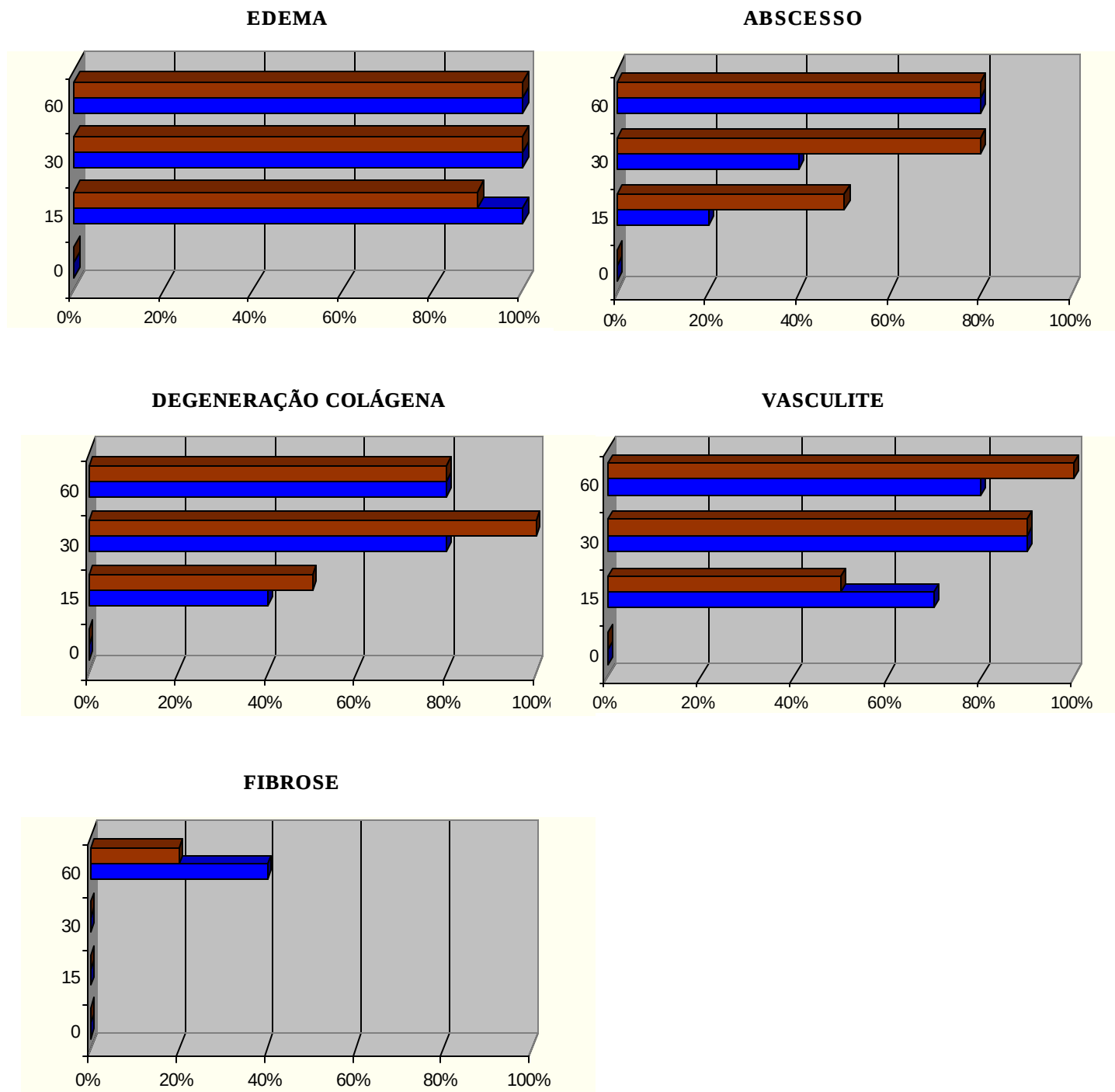


FIGURA 05. Percentual das principais alterações dermatopatológicas dermais e subcutâneas em relação ao sexo, machos (azul) e fêmeas (vermelho), e aos dias após a inoculação, em gatos (*Felis catus*) com esporotricose experimental.

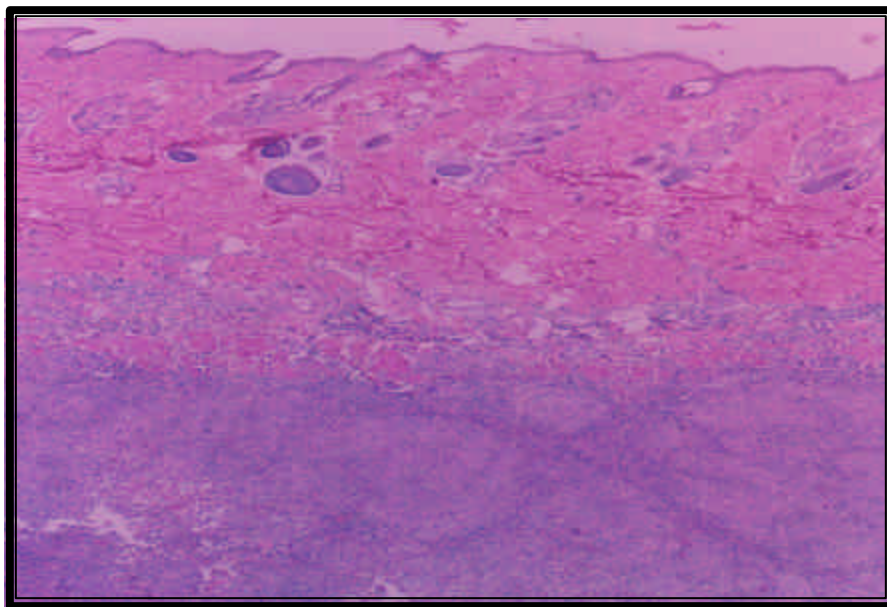


FIGURA 06. Intensa inflamação centrada no tecido subcutâneo e na derme reticular ao 15^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) inoculados experimentalmente com *S. schenckii* (H&E-10X).

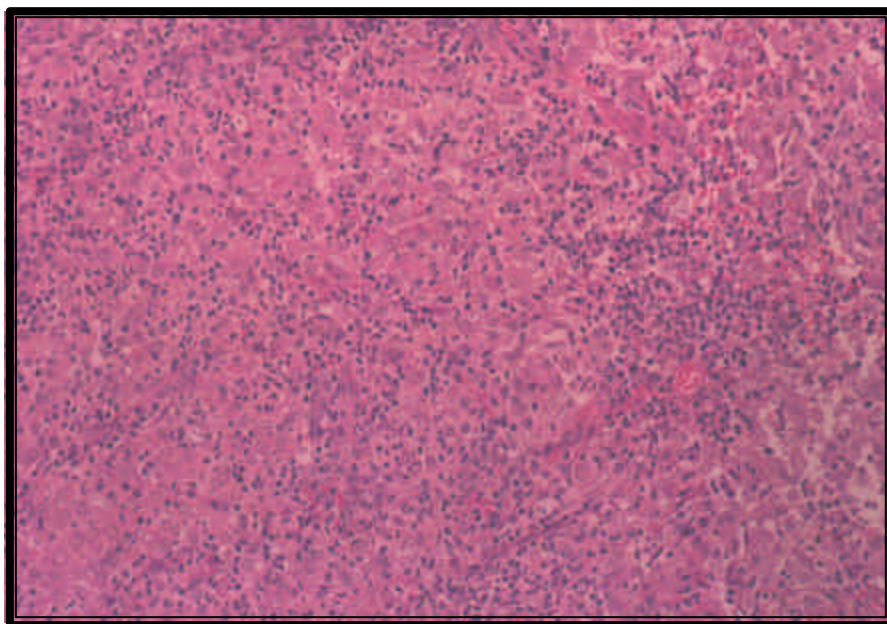


FIGURA 07. Intensa inflamação piogranulomatosa no tecido subcutâneo, ao 15^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) inoculados experimentalmente com *S. schenckii* (H&E-50X).

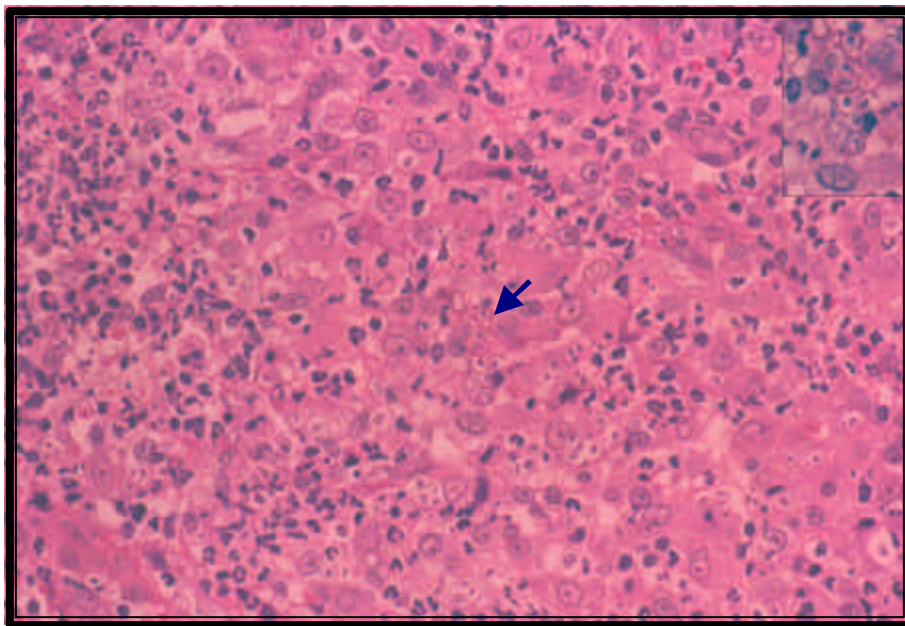


FIGURA 08. Centro supurativo (esquerda) associado a inúmeros macrófagos epitelióides e células fúngicas (seta) pleomórficas no tecido subcutâneo, ao 15^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *S.schenckii* (H&E- 100X).

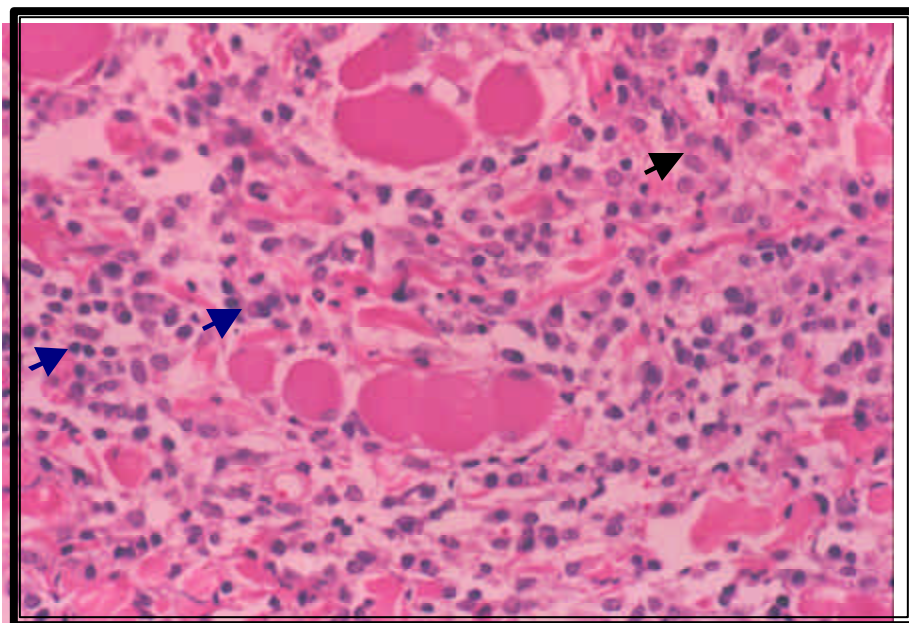


FIGURA 09. Transição dermosubcutânea ao 15^o dia de infecção, demonstrando um infiltrado linfoplasmocítico (setas azuis) e macrófagos epitelióides (seta preta), em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *S.schenckii* (H&E- 100X).

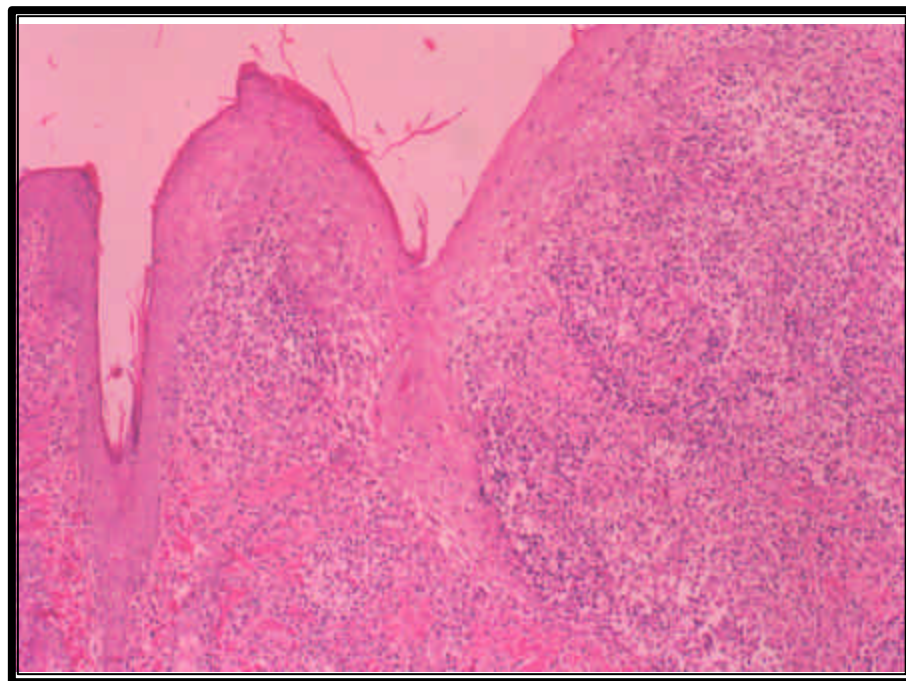


FIGURA 10. Inflamação na derme papilar e reticular ao 30^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *S. schenckii* (H&E- 100X)

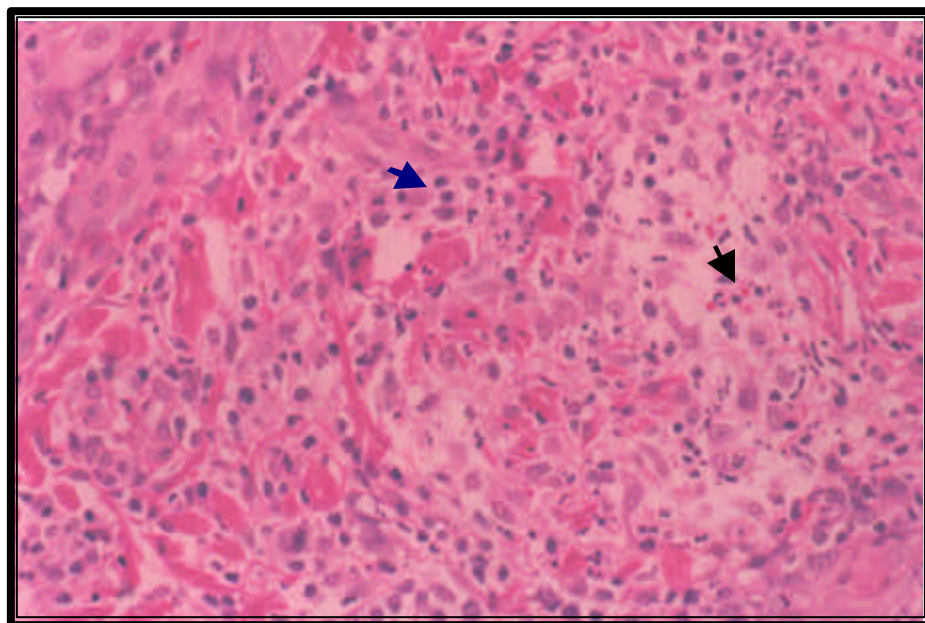


FIGURA 11. Presença de edema e intenso infiltrado inflamatório linfocítico (seta azul) e piogranulomatoso dermal (seta preta) ao 30^o dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *S. schenckii* (H&E- 100X).

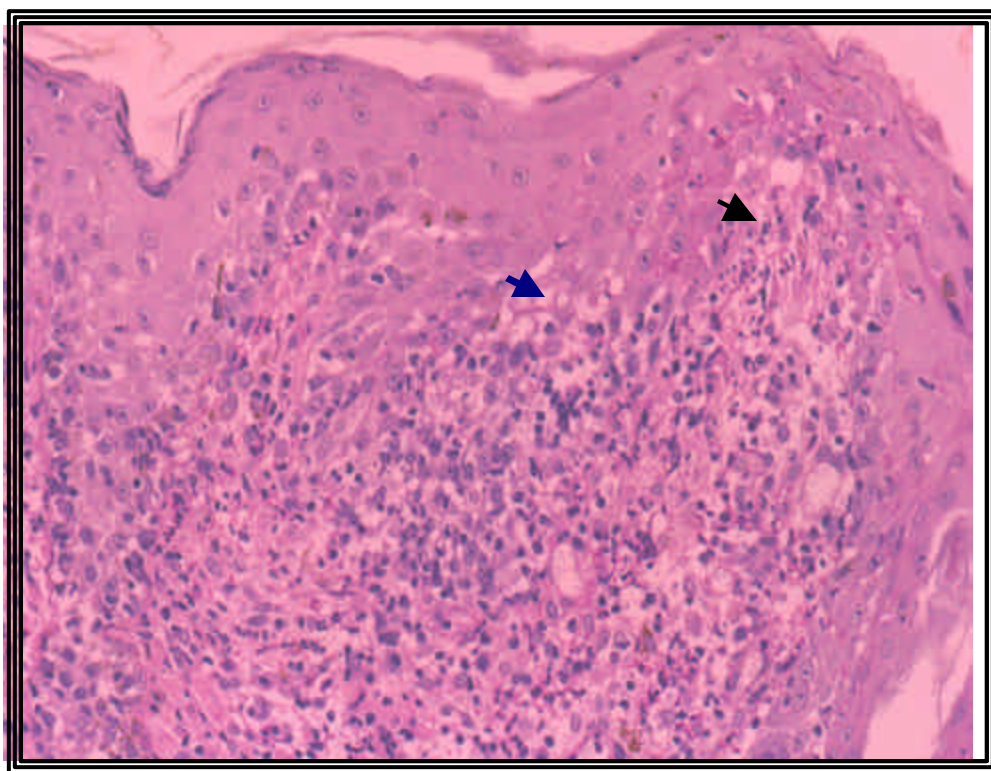


FIGURA 12. Acanthose, degeneração hidrópica de ceratinócitos basais (seta azul), incontinência pigmentar e exocitose neutrofílica (seta preta) associado a intenso infiltrado inflamatório misto na derme papilar, ao 30^o dia infecção, em felinos com esprotricrose experimental (H&E-100X).

4.3. Avaliação das células fúngicas

A evolução da intensidade das células fúngicas e sua distribuição histológica está resumida na Tabela 4.

No 15º dia de infecção, as células fúngicas apresentavam-se livres e fagocitadas, íntegras e fragmentadas, em quantidade moderada a intensa e restritas ao tecido subcutâneo e derme profunda (Figuras 13 e 14).

No 30º dia de infecção, os elementos fúngicos apresentavam-se livres e fagocitados, íntegros e fragmentados, sendo encontrados no interior dos microabscessos, através do granuloma e difundidos pelo tecido subcutâneo e camadas da pele. Sua intensidade variou de leve, moderada e intensa, respectivamente, na epiderme, derme e tecido subcutâneo (Figuras 15 e 16).

No 60º dia de infecção observou-se uma importante diminuição na quantidade de células fúngicas, sendo esta estatisticamente significativa no tecido subcutâneo dos machos. Entretanto houve persistência da infecção em todos os segmentos cutâneos e no tecido subcutâneo, encontrando-se as células fúngicas geralmente em discreta quantidade, íntegras e fragmentadas, livres e fagocitadas em ambos os sexos (Figuras 17 e 18).

Diferenças estatisticamente significantes não foram verificadas em relação à intensidade tecidual das células fúngicas, entre machos e fêmeas, nos vários momentos de infecção.

Tabela 4- Medianas de escores de intensidade de células fúngicas segundo localização histológica cutânea, dias de infecção e sexo (M- machos e F- fêmeas) em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *Sporothrix schenckii*.

Camadas	DIAS							
	00		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Epiderme	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B
Derme	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	2,0 _b ^B	1,5 _b ^B	1,5 _b ^B	2,0 _b ^B	1,0 _a ^{AB}	1,0 _a ^{AB}
Subcutâneo	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	2,0 _b ^B	3,0 _c ^B	3,0 _c ^B	3,0 _c ^B	0,0 _a ^A	1,0 _a ^{AB}

Escores: 0,0- ausente; 1,0-leve; 2,0-moderado e 3,0-intenso

Para o mesmo sexo- Letras maiúsculas: para cada camada, escores de intensidade de células fúngicas (representadas pelas medianas) segundo dias, seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P < 0,05$).

Para o mesmo sexo- Letras minúsculas: para cada número de dias após a inoculação, escores de intensidade de células fúngicas, representadas pelas medianas, segundo camadas, seguidas de letras iguais não diferem significativamente ($P < 0,05$).

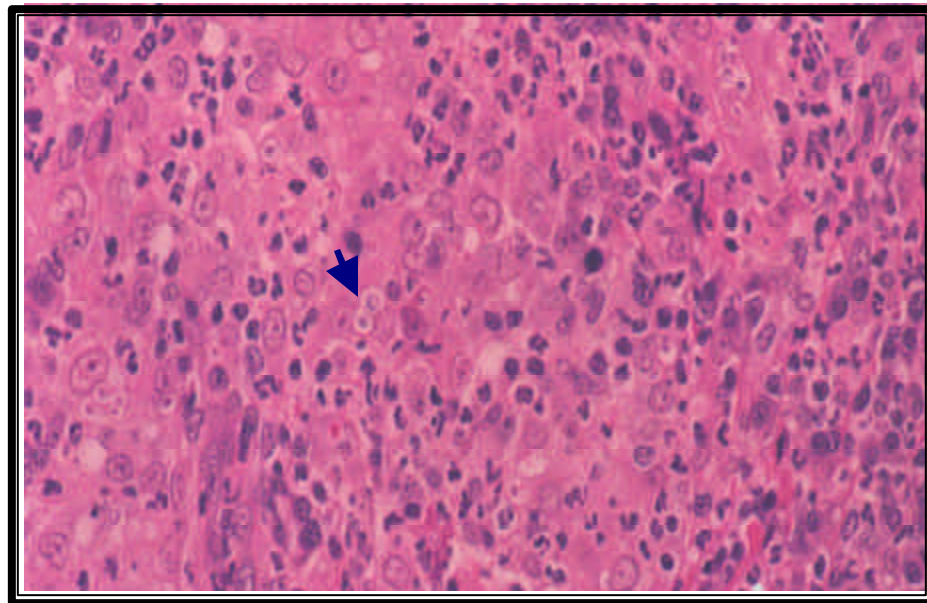


FIGURA 13. Numerosas células fúngicas pleomórficas, íntegras, livres e fagocitadas (seta) ao 15^o dia infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E- 250X).

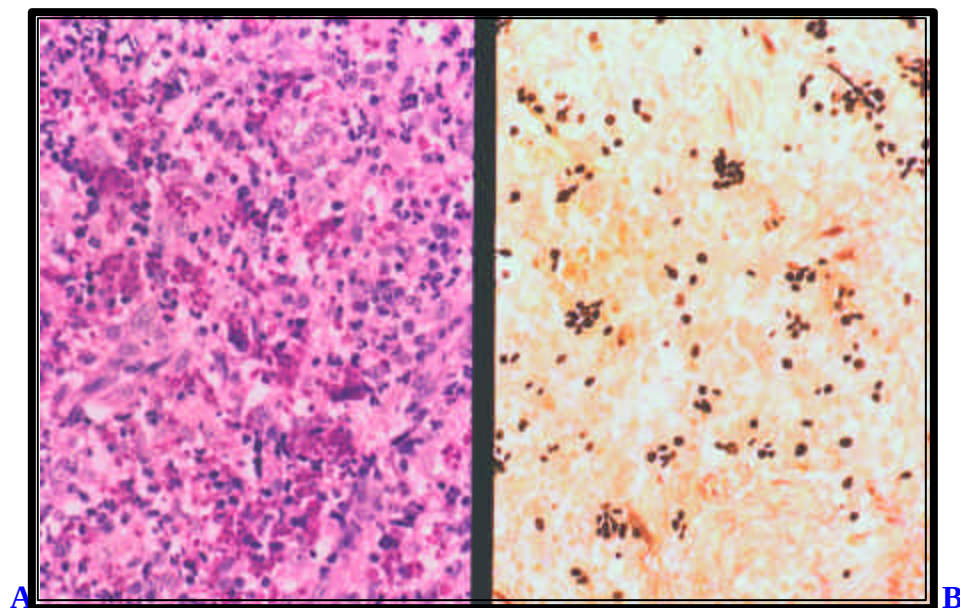


FIGURA 14. Numerosas células fúngicas ao 15^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental apresentando: **(a)** corpo celular eosinofílico e envoltos por um halo claro em P.A.S. (100X) e **(b)** células fúngicas coradas pela prata (GOMORI, 100 X).

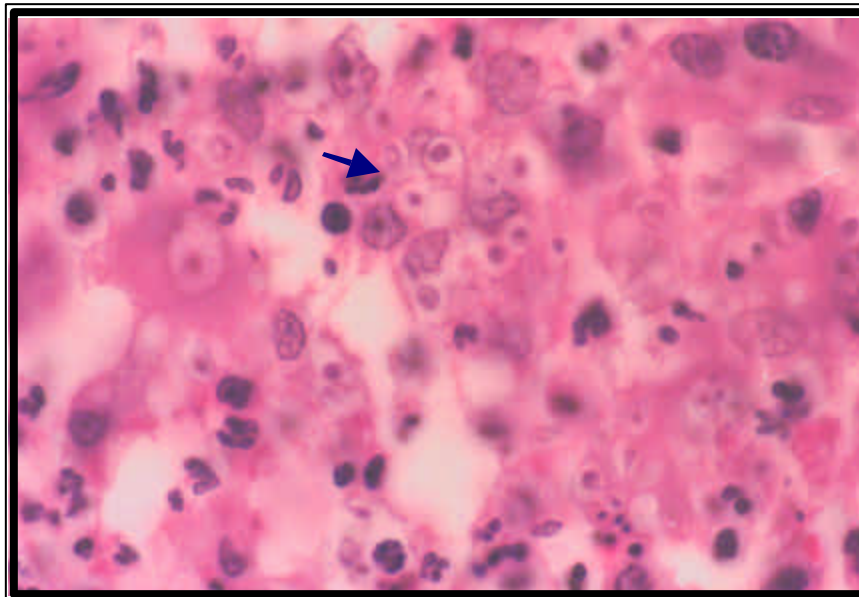


FIGURA 15. Células fúngicas pleomórficas e íntegras (seta) no interior de macrófagos ao 30^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E- 250X).

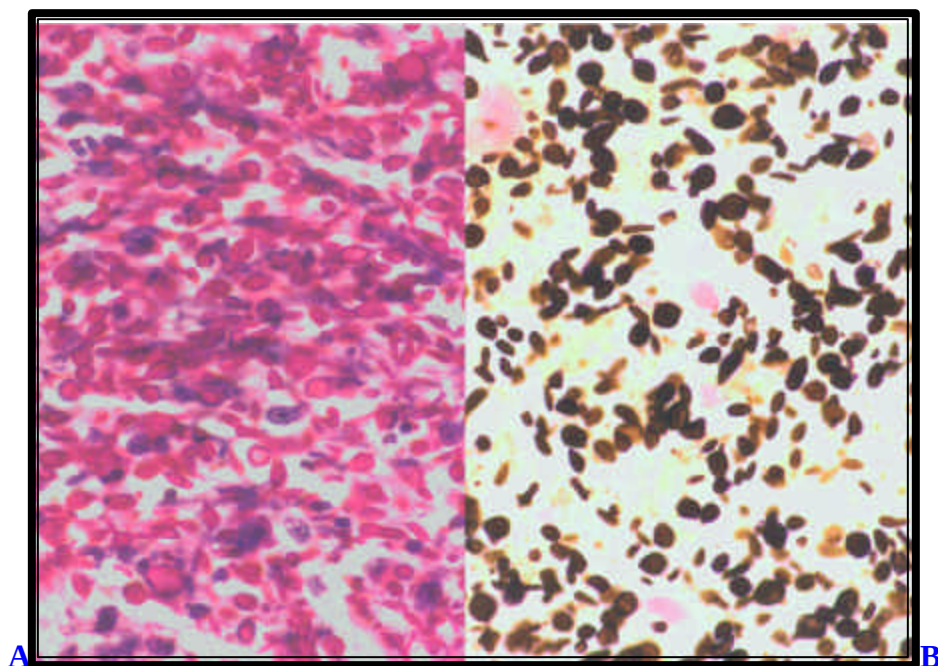


FIGURA 16. Células fúngicas íntegras e pleomórficas, isoladas ou em brotamento simples ao 30^o dia de infecção experimental coradas pelo (a) P.A.S. (100X) e (b) GOMORI (100 X).

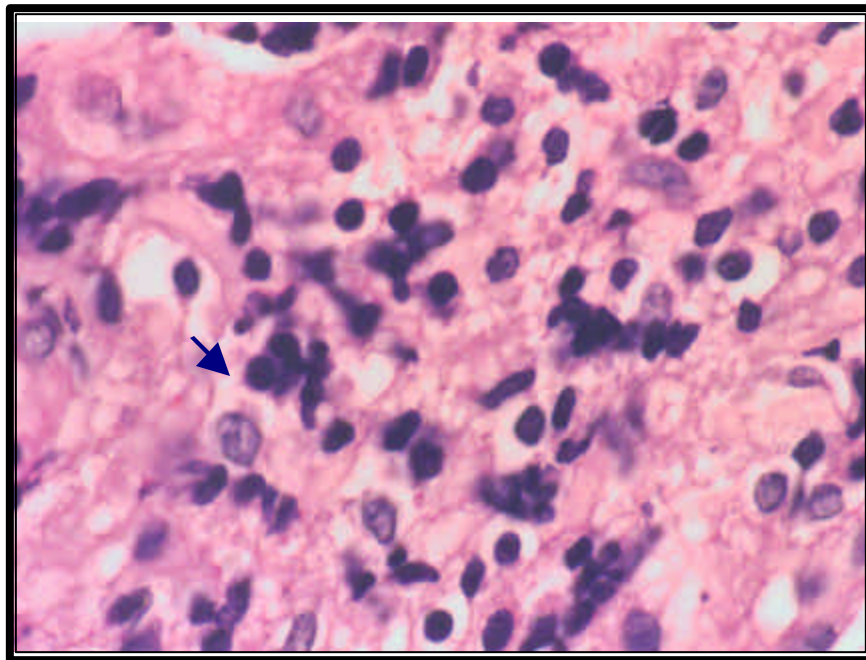


FIGURA 17. Infiltrado de células epitelióides, linfócitos (seta) ao 60^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E- 250X).

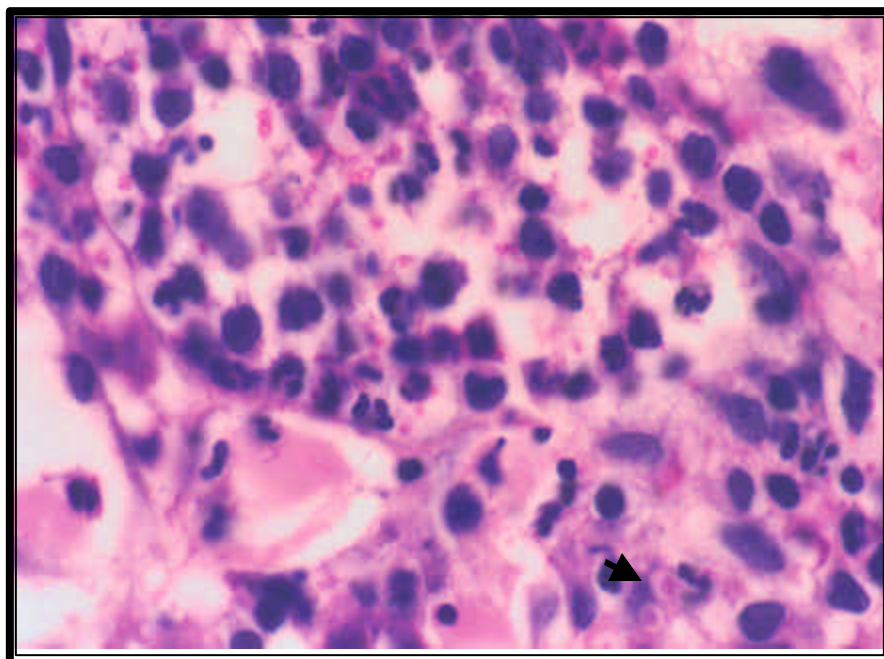


FIGURA 18. Discreta quantidade de células fúngicas (seta) ao 60^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (P.A.S.- 250X).

4.4. Avaliação citopatológica

Ao exame citopatológico, no 15^o e 30^o dias após a inoculação, evidenciou-se presença de sangue e fibrina, porém estes não comprometiam a avaliação da lâmina, sendo a arquitetura das células excelente (Figura 19). Uma intensa quantidade de células fúngicas, geralmente pleomórficas, envoltas por um halo claro, íntegras e degeneradas, livres e fagocitadas, isoladas ou em brotamento simples foram registradas. O infiltrado inflamatório foi predominantemente piogranulomatoso e linfocitário, sendo plasmócitos esporadicamente observados (Figura 20). Comumente, leveduras em brotamento foram visualizadas no interior de macrófagos (Figura 21).

No 60^o dia, nos machos, foi observado um moderado infiltrado inflamatório piogranulomatoso e linfocítico, enquanto nas fêmeas, o infiltrado inflamatório manteve-se intenso. Em todos os animais, as células fúngicas encontravam-se degeneradas, escassas, de contornos indefinidos e de coloração opacificada, entretanto em duas fêmeas foram observadas uma leve quantidade de células fúngicas, pleomórficas, íntegras e degeneradas, livres e fagocitadas, isoladas ou em brotamento que apresentavam excelentes padrões diagnósticos (Figura 22).

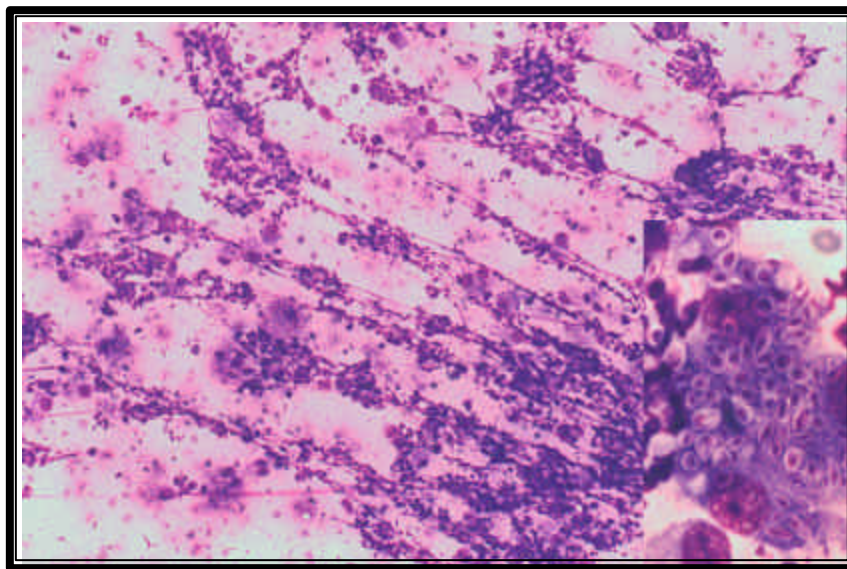


FIGURA 19. Vista global do exame citopatológico ao 15º dia de infecção em felinos (*Felis cati*) com esporotricose experimental (Panóptico- 50X).

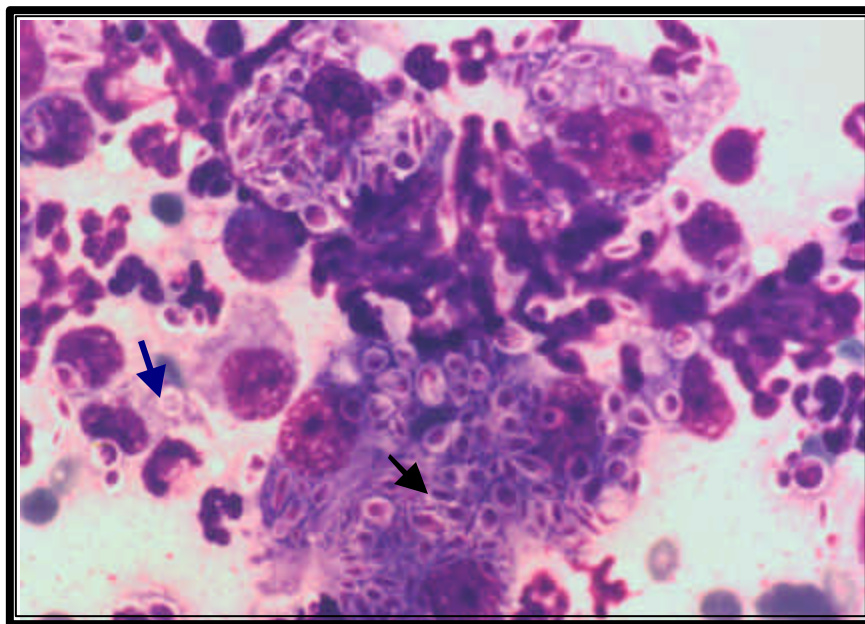


FIGURA 20. Células fúngicas íntegras (seta preta) e degeneradas (seta azul), pleomórficas, envoltas por um halo claro, livres ou fagocitadas, associadas a um infiltrado piogranulomatoso ao 15º dia de infecção experimental (Panóptico- 250X).

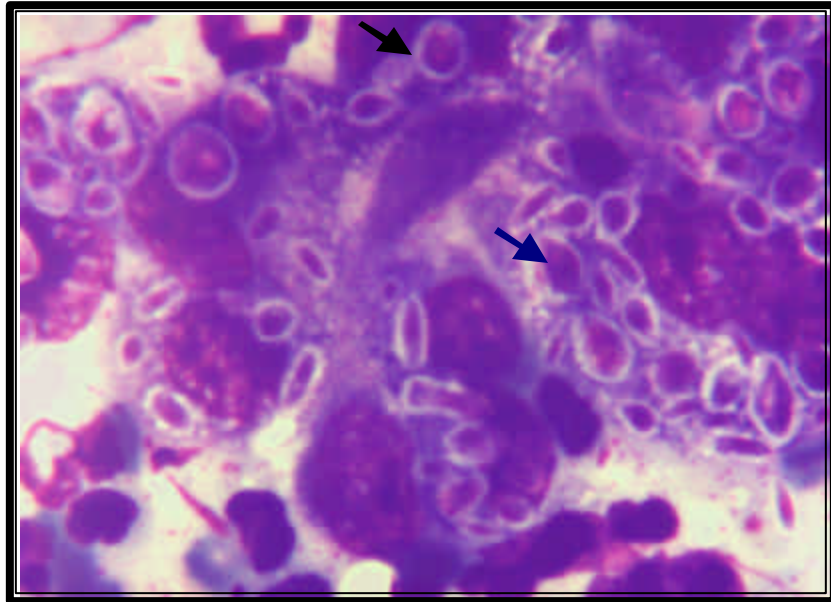


FIGURA 21. Numerosas células fúngicas íntegras, pleomórficas, fagocitadas (seta azul), isoladas ou em brotamento simples (seta preta) ao 15^o dia de infecção experimental (Panóptico- 400X).

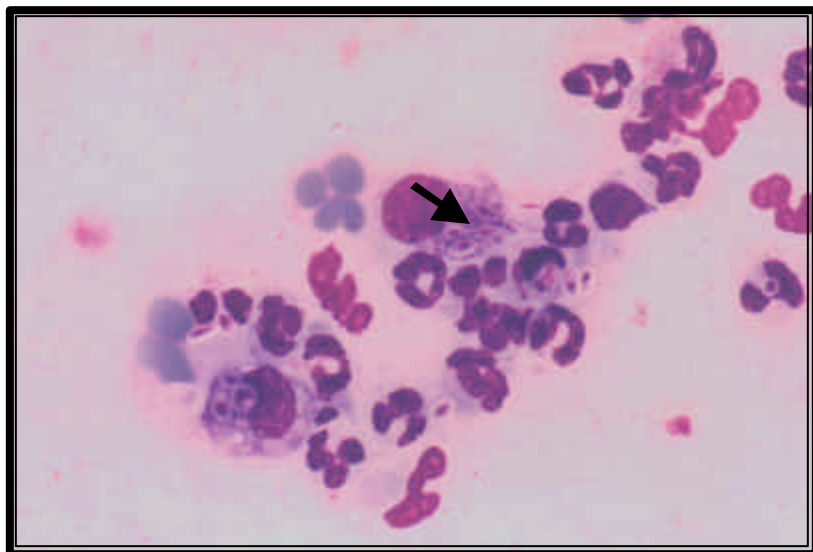


FIGURA 22. Moderada quantidade de células fúngicas (seta) associada a um infiltrado piogranulomatoso em apenas duas fêmeas, ao 60^o dia de infecção experimental (Panóptico- 250X).

4.5. Avaliação do cultivo fúngico lesional

Todos animais apresentaram cultivo fúngico positivo nas amostras colhidas ao 15^o e 30^o dias. Entretanto, no 60^o dia de infecção, cultivos fúngicos positivos, obtidos a partir das amostras colhidas da área lesional, foram observados em dois machos e em quatro fêmeas de cinco avaliadas.

O *Sporothrix schenckii* apresentou um crescimento micelial, em cinco a 10 dias, formando uma colônia inicialmente de cor creme, aderente ao meio de cultura, escurecendo com a maturidade do cultivo (Figura 23a). À microscopia foram constatadas hifas finas e septadas, com pequenos conídios ovóides nas extremidades de diminutos esterigmas sobre um conidióforo, em um padrão lembrando pétalas de margarida (Figura 23b).

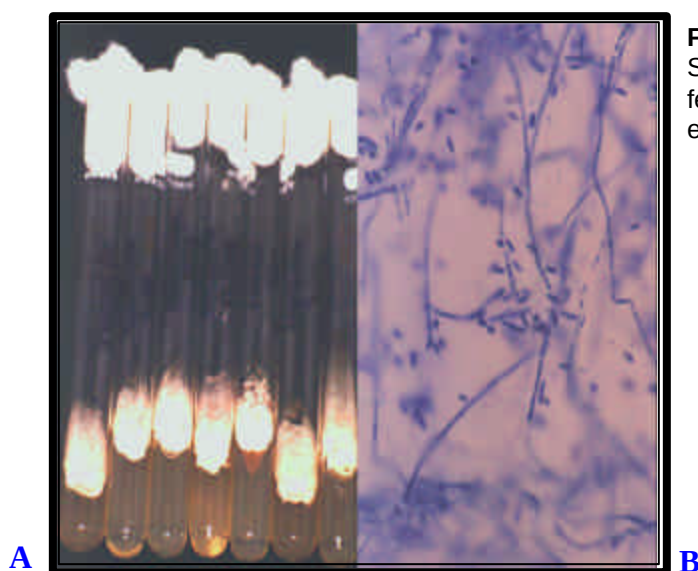


FIGURA 23. Cultivo fúngico em ágar Sabouraud a partir do exsudato de felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental demonstrando :

- (a) uma colônia inicial de cor creme e fortemente aderida;
- (b) hifas finas e septadas compostas por esterigmas e inúmeros conídios sob um conidióforo (Azul-algodão-250X).

4.6. Avaliação da sensibilidade entre os exames histopatológico, citopatológico e cultivo fúngico.

Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi evidenciada na comparação da sensibilidade entre os exames citopatológico, histopatológico, cultivo e identificação fúngica, na obtenção de um diagnóstico definitivo, nas múltiplas fases de evolução da esporotricose felina em machos e fêmeas (Tabela 5).

Tabela 5-Medianas de escores segundo exames subsidiários ao diagnóstico, sexo (M- macho e F- fêmeas) e dias, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *Sporothrix schenckii*.

EXAME	DIAS							
	00		15		30		60	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Citopatológico	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	0,0 _a ^A	0,0 _a ^{AB}
Histopatológico	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	1,0 _a ^{AB}	1,0 _a ^B
Cultivo Fúngico	0,0 _a ^A	0,0 _a ^A	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	1,0 _a ^B	0,0 _a ^{AB}	1,0 _a ^B

Escores: 0,0- Ausente; 1,0- Presente

Para o mesmo sexo- Letras maiúsculas: para cada exame subsidiário ao diagnóstico, a sensibilidade do exame, representadas pelo escore, segundo dias após inoculação, seguidas de letras iguais não diferem significativamente (P<0,05).

Para o mesmo sexo- Letras minúsculas: para cada número de dias após a inoculação, a sensibilidade dos exames, representadas pelo escore, seguidas de letras iguais não diferem significativamente (P<0,05).

4.7. Avaliação histopatológica e cultivo de múltiplos órgãos

A avaliação histopatológica dos linfonodos submandibular e cervical superficial cranial no 30^o e 60^o dia de infecção, revelou intensa reatividade em todos os animais (Figura 24). Adicionalmente, necrose focal foi evidenciada em dois machos e três fêmeas no 60^o dia de infecção.

Congestão e hiperplasia de polpa branca, de moderada a intensa, foram os achados mais significativos da avaliação histopatológica esplênica no 30^o e 60^o dias de infecção (Figura 25).

Uma hepatite linfoplasmocitária leve, periportal e centrolobular, associada a congestão, intensa esteatose e necrose hepatocelular esporádica foram evidenciadas no 30^o dia de infecção (Figura 26), sendo estes achados esporádicos ao 60^o dia após inoculação.

Intensa degeneração hidrípica das células tubulares renais foi verificada em todos os animais no 30^o dia de infecção, sendo associada à glomerulonefrite em um de cinco machos e três das cinco fêmeas avaliadas (Figuras 27 e 28). Ao 60^o dia de infecção, em todos os animais avaliados, houve manutenção das alterações histopatológicas, porém moderadas em sua intensidade.

À avaliação histopatológica pulmonar, no 30^o dia, foi observado uma intensa hiperreatividade peribronquial em todos os animais avaliados (Figura

29), sendo esta associada à agressão à membrana basal e ao epitélio bronquial em dois machos e três fêmeas. Quadro histopatológico semelhante, porém em menor intensidade foi evidenciado ao 60º dia, em três machos e em todas as fêmeas.

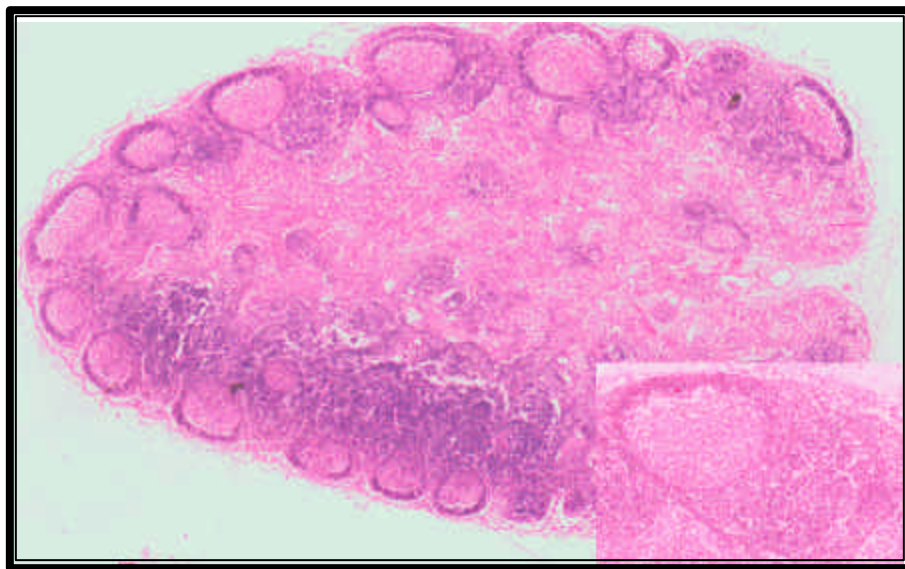


FIGURA 24. Avaliação histopatológica do linfonodo submandibular apresentando hiperplasia dos folículos corticais (em destaque) ao 30^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) inoculados experimentalmente com *Sporothrix schenckii* (H&E, 05X).

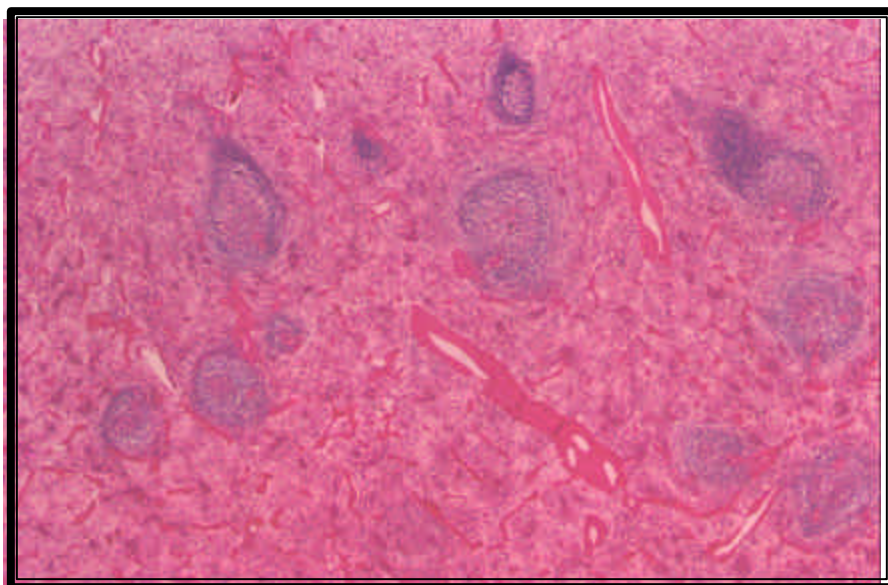


FIGURA 25. Avaliação histopatológica esplênica apresentando hiperplasia de polpa branca e congestão ao 30^o dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (HE, 10X).

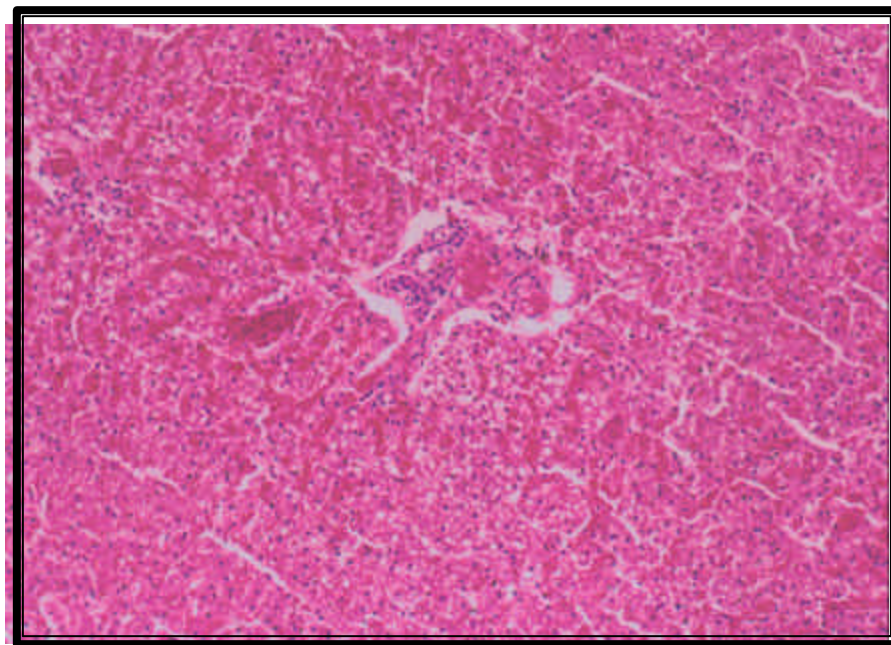


FIGURA 26. Avaliação histopatológica hepática apresentando discreta inflamação periportal e intensa esteatose ao 30º dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E, 33X).

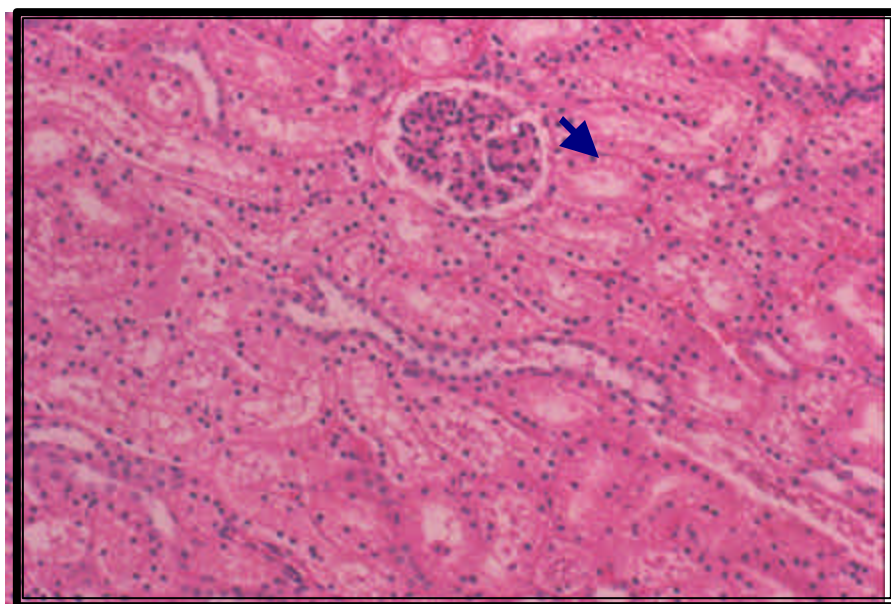


FIGURA 27. Avaliação histopatológica renal demonstrando intensa degeneração hidrópica tubular renal ao 30º dia de infecção em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E, 50X).

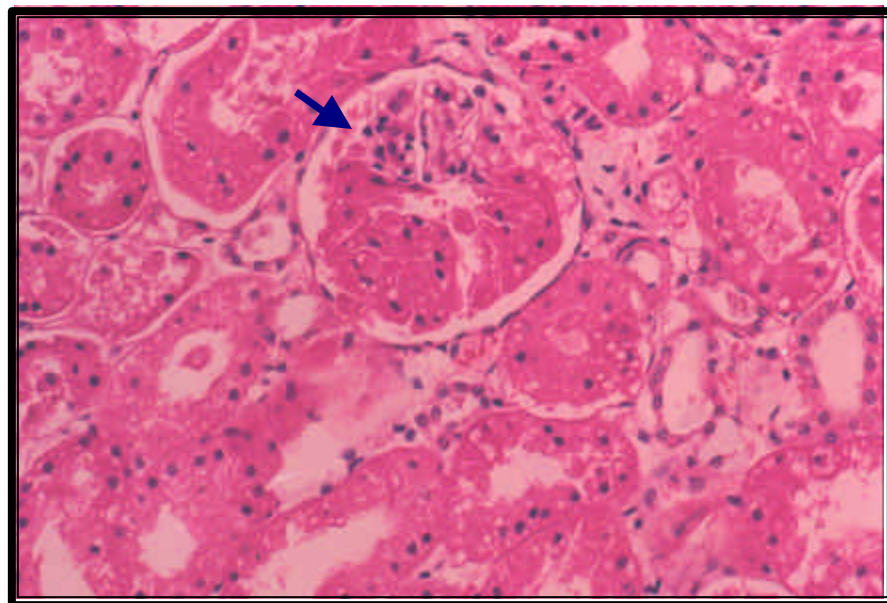


FIGURA 28. Avaliação histopatológica renal apresentando glomerulonefrite segmentar e focal (seta) associada à degeneração tubular renal ao 30º dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E, 80X).

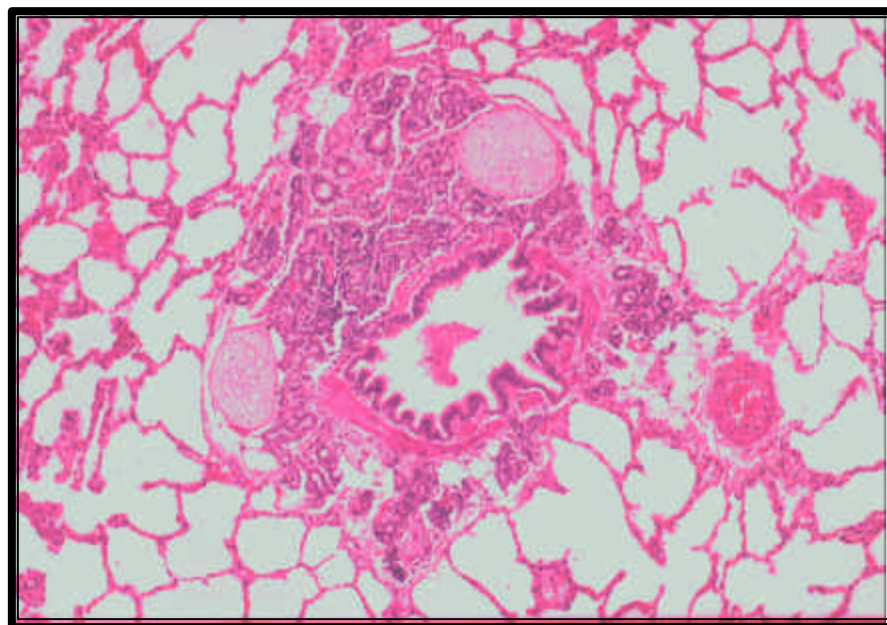


FIGURA 29. Corte histológico pulmonar apresentando hiperreatividade peribroquial ao 30º dia de infecção, em felinos (*Felis catus*) com esporotricose experimental (H&E, 80X).

Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada no potencial de disseminação sistêmica da esporotricose em machos e fêmeas.

No 30º dia de infecção, cultivos fúngicos positivos a partir dos fragmentos de múltiplos órgãos foram obtidos em três felinos machos e em todas as fêmeas. Os linfonodos foram acometidos em 50% dos casos: o baço, em 30%; o fígado, em 20%; os rins, em 20% e o pulmão, em 10% (Tabela 6). A síndrome cutânea fixa ocorreu em um macho, a linfocutânea foi restrita em três animais, um macho e duas fêmeas; e a sistêmica foi verificada em seis animais, três machos e três fêmeas (Tabela 7).

No 60º dia de infecção, o cultivo fúngico positivo a partir do fragmento de múltiplos órgãos foi verificado em um macho e quatro fêmeas, sendo os linfonodos acometidos em 40% dos casos; o baço em 30%; o fígado em 10%; sendo os rins e o pulmão negativos (Tabela 6). A síndrome cutânea fixa ocorreu em cinco animais, quatro machos e uma fêmea; a linfocutânea em duas fêmeas; e a sistêmica em três animais, um macho e duas fêmeas (Tabela 7).

Tabela 6 Número de animais cultivo positivo em relação ao sexo, dias e órgãos, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *Sporothrix schenckii*.

Órgãos		Linfonodo		Baço		Fígado		Rim		Pulmão	
Sexo	Dias	30	60	30	60	30	60	30	60	30	60
Macho*		01	01	01	01	02	01	01	00	00	00
Fêmea*		04	03	02	01	00	00	01	00	01	00

* Ao 30^o e 60^o dia de infecção, foram utilizados cinco animais de cada sexo para averiguar o potencial de disseminação sistêmica da esporotricose.

Tabela 7- Síndromes clínicas da esporotricose em relação ao sexo, dias e número de animais, em felinos (*Felis catus*) infectados experimentalmente com *Sporothrix schenckii*.

SÍNDROMES CLÍNICAS		Cutânea fixa		Linfocutânea		Sistêmica	
SEXO	DIAS	30	60	30	60	30	60
Macho		01	04	01	00	03	01
Fêmea		00	01	02	02	03	02

5. DISCUSSÃO

5.1. Avaliação clínica seriada e potencial de disseminação sistêmica da esporotricose felina experimental.

A esporotricose experimental é facilmente induzida em ratos, hamsters e camundongos (Barbee et al., 1977; Read & Sterling, 1982), parecendo ser o coelho, o mais resistente de todos os animais de laboratório (Braude et al., 1960). Barbee et al. (1977) induziu esporotricose em 90% de 20 gatos infectados. No presente trabalho, a esporotricose experimental foi induzida em todos os gatos domésticos inoculados, de ambos os sexos, sem nosologias dermatológicas ou sistêmicas concomitantes, a partir de uma cepa de *Sporothrix schenckii*, isolado originalmente de um paciente humano, comprovando a suscetibilidade desta espécie à infecção experimental.

O período pré-patente verificado na esporotricose experimental foi de sete dias em 55% dos animais, havendo sinais de infecção em todos os gatos após 14 dias. Ao 30^o dia de infecção, houve um predomínio da síndrome sistêmica disseminada entre os animais inoculados, parecendo ser esta mais comum em felinos do que tem sido documentada pela literatura (Dunstan et al, 1986; Werner & Werner, 1993). Em seres humanos a disseminação da infecção é associada à imunodeficiência congênita ou adquirida por terapia imunossupressora ou doenças imunodepressoras (Donadel et al., 1993; Agarwal et al., 1994; Bolao et al., 1994; Kumar et al.,

1994; Vasen et al., 1996; Al-tawfiq & Wools, 1998). Em felinos, embora o imunocomprometimento possa colaborar para disseminação da infecção, a associação desta com o vírus da leucemia felina e outras causas específicas de imunossupressão têm sido raramente descritas (Dunstan et al., 1986; Werner & Werner, 1993; Davies & Troy, 1996), fato também observado neste estudo, onde a difusão da infecção ocorreu sem evidências de concomitantes nosologias cutâneas ou sistêmicas. Associadas a disseminação, apenas três animais (todas fêmeas) apresentaram anorexia, desidratação, febre e emaciação, o que demonstra que esta pode ocorrer na espécie felina sem sinais evidentes de comprometimento sistêmico como também observado por McDonald et al. (1980).

Ao 60º dia as síndromes mais comuns foram a cutânea fixa nos felinos machos e a linfocutânea e sistêmica disseminada nas fêmeas. Na forma cutânea fixa, a infecção permanece localizada devido a um equilíbrio entre a resistência do hospedeiro e a virulência do fungo, já o quadro linfocutâneo decorre da adaptação do agente, exacerbação de sua virulência e evasão aos mecanismos de resposta imunológica do hospedeiro (Donadel et al., 1993).

Um quadro cutâneo disseminado, caracterizado por múltiplas lesões satélites faciais, associado as demais síndromes clínicas, foi verificado em oito animais, quatro machos e quatro fêmeas, a partir da quarta semana. A forma cutânea disseminada decorre da difusão linfática ou hematogênica do

microrganismo fúngico, de uma hipersensibilidade ao parasita ou de auto-inoculação secundária aos hábitos de limpeza inerentes à espécie felina (Read & Sterling, 1982; Dunstan et al., 1986; Larsson et al., 1989).

As células fúngicas ao 15^o e 30^o dias de infecção apresentavam-se em grande quantidade, íntegras, livres e ou fagocitadas, o que pode subsidiar o potencial de transmissibilidade da esporotricose felina. Ao 60^o dia de infecção houve uma significativa diminuição na quantidade de células fúngicas, fato que pode limitar sua transmissão nesta fase.

O isolamento fúngico extracutâneo, no presente trabalho, foi verificado com maior frequência no linfonodo e baço, o que denota a importância das vias linfáticas na difusão do fungo. Adicionalmente, cultivo fúngico positivo foi também obtido a partir de fragmentos do fígado, rim e pulmão, entretanto, semelhante ao verificado por outros autores (Dunstan et al., 1986), células fúngicas teciduais não foram observadas nos cortes histológicos, corados em H&E, em nenhum dos órgãos avaliados. Histologicamente, os linfonodos revelaram intensa reatividade em todos os animais, podendo ser esta justificada pelo estímulo à resposta imunológica aos elementos fúngicos, bem como à infecção bacteriana secundária. Uma necrose focal foi evidenciada nos linfonodos de sete animais (três machos e quatro fêmeas), podendo decorrer da presença de antígenos fúngicos ou bacterianos solúveis circulantes. As alterações histopatológicas hepáticas e renais, observadas ao 30^o dia de infecção, podem decorrer de um quadro reacional

infeccioso ou toxêmico, os quais tenderam à resolução parcial ao 60º dia de infecção. O quadro histopatológico pulmonar pode derivar de inotraqueíte infecciosa oportunista, de etiologia viral e bacteriana, que comumente acompanha as infecções micóticas subcutâneas e sistêmicas em felinos (Dunstan et al, 1986; Lappin, 1993).

O crescimento da lesão foi significativo após a indução da infecção experimental e uma involução espontânea da média dos tamanhos lesionais entre a quinta e a oitava semanas foi verificada, não havendo diferenças estatisticamente significantes entre a primeira e oitava semana de observação em animais de ambos os sexos. Diferenças entre machos e fêmeas, em relação ao tamanho lesional foi percebido apenas entre a sétima e oitava semana, sendo possível inferir que a involução das lesões ocorreu de forma mais rápida nos machos em relação às fêmeas, no período observado. Adicionalmente, embora não tenham sido verificadas diferenças estatisticamente significantes da disseminação da doença entre machos e fêmeas, ao 60º dia de infecção experimental, 80% dos machos apresentavam um quadro restrito à pele, enquanto as fêmeas predominantemente apresentavam lesões linfocutâneas ou sistêmicas. Os hormônios femininos, particularmente o estradiol, são capazes de inibir *in vitro* a transformação micélio-levedura e conídio-levedura, além de estimular a fagocitose, o que conferiria a estes um papel protetor contra as infecções fúngicas (Restrepo & Yasuda, 1991). Entretanto, o estradiol também é capaz

de hiperestimular a imunidade humoral, realçando a produção de imunoglobulinas séricas (Grossman, 1984) e inibindo a imunidade celular mediada. Este fato pode explicar a tendência à cronificação, deterioração clínica e disseminação sistêmica da esporotricose felina observadas nas fêmeas no presente trabalho.

5.2. Avaliação histopatológica da resposta inflamatória e das células fúngicas

A lesão tecidual ocasionada pelas infecções micóticas geralmente resulta de seu potencial de invasibilidade, deslocamento e destruição de estruturas vitais, oclusão de arterias e veias levando à necrose tecidual isquêmica, além dos efeitos degenerativos associados à resposta inflamatória. A liberação de proteinases tipo I e II foi demonstrada na esporotricose murina experimental, tendo estas atividades hidrolíticas sobre o extrato córneo, colágeno e fibras elásticas, colaborando para a virulência fúngica (Yoshiike et al, 1993).

No presente trabalho, ao 15^o dia de infecção, foi observado um intenso infiltrado piogranulomatoso, formando microabscessos no tecido subcutâneo, sendo circundado por numerosos macrófagos epitelióides e linfócitos. As células fúngicas eram de moderadas a intensa em sua quantidade e restritas ao tecido subcutâneo e derme profunda. Estes achados são explicados

devido a serem os mecanismos não específicos a primeira linha de defesa contra a infecção fúngica, consistindo em barreiras mecânicas fisiológicas, resposta inflamatória e fagocitose. As células fúngicas ativam o sistema complemento pela via alternativa e ligam-se a fragmentos C3, sendo em seguida opsonizadas à neutrófilos, monócitos circulantes ou macrófagos tissulares, via receptores C3b e iC3b (Fukazawa & Kagaya, 1988). Paralelamente, C3a e C5a induzem a degranulação mastocitária, quimiotaxia dos fagócitos e potencializam a inflamação (Fukazawa & Kagaya, 1988). Os neutrófilos constituem as células efetoras da proteção às infecções micóticas, sendo capazes de fagocitar 90% das leveduras com as quais entram em contato (Leigh et al, 1977). Após a fagocitose, a digestão intracelular dos esporos é realizada pela ativação do sistema de mieloperoxidase halogênio, o acúmulo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no fagossoma e por mecanismos não oxidativos relacionados com proteínas catiônicas e enzimas hidrolíticas (Ramos Zepeda et al, 1986, Restrepo & Yasuda, 1991). Os macrófagos são responsáveis pela fagocitose, degradação, estoque, transferência e processamento antigênico das células fúngicas, interagindo assim com outras células do sistema imunológico, como linfócitos B e T. Os macrófagos são desprovidos do sistema de mieloperoxidase e geração de radicais livres de oxigênio, sendo quase todos os fungos patogênicos resistentes a sua atividade fungicida (Fromtling & Shadomy, 1986).

Ao 30^o dia de infecção experimental apesar do aumento do infiltrado inflamatório linfo-histiocitário e neutrofílico na derme e epiderme, houve um aumento na quantidade de células fúngicas e difusão significativa destas para outros segmentos cutâneos. A síndrome clínica da esporotricose de maior frequência de ocorrência, neste momento, foi a sistêmica disseminada. Ao 60^o dia de infecção, apesar da tendência de resolução das lesões dermatológicas da esporotricose felina experimental, houve manutenção de um infiltrado inflamatório piogranulomatoso e linfocitário tegumentar, além de persistência do quadro infeccioso em todos os animais, fato também descrito por Werner & Werner (1993), os quais afirmaram que as células fúngicas são capazes de permanecer nas lesões cicatriciais por até seis meses.

Dunstan et al. (1986) sugerem que um estado de anergia favoreceria a intensa quantidade de microrganismos fúngicos presentes na lesão felina, além da disseminação e cronificação da infecção. Entretanto, a resposta inflamatória à infecção foi intensa, em todos os momentos deste trabalho, o que denota não uma anergia, porém uma inefetividade da resposta imunológica em conter a proliferação e disseminação fúngica na esporotricose felina experimental.

Hiruma et al. (1992), estudando pacientes humanos com esporotricose demonstraram que o infiltrado de macrófagos e células gigantes agem com o intuito de formar um denso granuloma, na tentativa de funcionar como uma barreira para o microrganismo, sendo responsáveis pela cronificação da

infecção. No presente trabalho, houve um estímulo a formação de um granuloma de centro necrótico supurativo, rodeado por macrófagos de aspecto epitelióide e por linfócitos, sendo escassa a presença de células gigantes multinucleadas e fibrose tecidual periférica. Esta inflamação granulomatosa de baixa densidade, pode ter favorecido a difusão da infecção localmente (pela derme e epiderme) e sistemicamente, semelhante ao observado por Peng-cheng et al., (1993) na esporotricose experimental murina, podendo as células fúngicas se disseminarem livremente ou no interior de macrófagos, por via linfática ou hematógena (Fromtling & Shadomy, 1986).

Adicionalmente, Peng-cheng et al (1993), demonstraram que a fagocitose, a fragmentação dos blastosporos e cicatrização lesional na esporotricose se encontram deprimidas em camundongos atímicos, com deficiência na imunidade celular mediada, permitindo a cronificação e a disseminação da infecção. Assim, a depressão constante da resposta imunológica mediada por células T condiciona o aparecimento de micoses ativas, progressivas e crônicas (Restrepo & Yasuda, 1991).

No presente trabalho, não há subsídios suficientes para se responsabilizar ou não uma imunodepressão como o principal fator responsável pela disseminação e cronificação da infecção, à medida que populações totais de linfócitos, a produção de interleucinas e a capacidade linfoproliferativa não foram avaliadas, entretanto, é pouco provável que o

imunocomprometimento justifique este comportamento, uma vez que estes animais se apresentavam hígidos (sem concomitantes lesões dermatológicas e sistêmicas), houve intensa resposta inflamatória à infecção e nenhuma causa específica de imunossupressão foi observada.

Em muitos casos, a hiporreatividade frente a certo antígeno micótico e a disseminação da infecção não indica necessariamente diminuição ou incapacidade funcional das células T (Musatti et al., 1976, Mota et al., 1988, Restrepo & Yasuda, 1991), podendo ser devida à presença de fatores bloqueadores séricos que diminuem a capacidade de linfoproliferação (Cox, 1979) ou falta de fatores que ampliem a resposta imune (Restrepo & Yasuda, 1991). Há ainda uma relação inversa entre o teor de anticorpos circulantes e a eficiência do sistema imune mediado por células T (Restrepo & Yasuda, 1991), e como a esporotricose felina é capaz de evocar uma gamopatia policlonal, esta pode conduzir a uma hiporreatividade destas células, com conseqüente generalização da infecção.

A intensa quantidade de elementos fúngicos observadas na lesão felina no presente trabalho, pode também causar uma hiperreatividade de subpopulações de células T supressoras, a qual pode ter alcançado seu pico no momento de maior atividade da infecção, na quarta semana após a inoculação, permitindo assim a multiplicação fúngica e a propagação da infecção. No momento em que a infecção experimental tendeu à resolução, ao redor da sétima e oitava semana, a função imunossupressora pode ter

sido substituída por uma hiperreatividade dos linfócitos T auxiliares, melhorando a capacidade do animal em reagir à infecção. Artz & Bullock (1979) demonstraram, em animais infectados experimentalmente com *Histoplasma capsulatum*, que o fator crítico para esta atividade supressora é a carga antigênica, tendo esta um papel protetor, evitando a intensa necrose tissular, nas áreas onde o microrganismo esta se reproduzindo. À medida que a carga antigênica diminui, a supressão seria desnecessária. Desta forma, com a persistência da carga antigênica por períodos prolongados na esporotricose felina experimental, poderia se estabelecer um longo período de atividade supressora, o que justificaria a tendência a cronificação da infecção.

5.3. Avaliação do exame citopatológico e comparação da sensibilidade entre este e os exames histopatológico e cultivo fúngico.

No presente trabalho o exame citopatológico demonstrou excelente qualidade diagnóstica, apresentando em todos os momentos de infecção alto grau de celularidade, preservação arquitetural tanto das células componentes do infiltrado inflamatório como das leveduras fúngicas. A quantidade de hemácias se encontravam em níveis aceitáveis e não comprometiam a qualidade diagnóstica do exame.

Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada na sensibilidade do exame citopatológico, histopatológico e cultivo e identificação fúngica nos vários momentos de infecção, demonstrando ser o exame citopatológico factível, viável, pouco invasivo e que exhibe material passível de análise, oferecendo elementos substanciais para a complementação diagnóstica.

6. CONCLUSÕES

O presente estudo nos permitiu concluir que:

- gato doméstico (*Felis catus*) é suscetível à esporotricose experimental, induzida por um inóculo subcutâneo de 10^6 células fúngicas;
- O período pré-patente da infecção variou de sete a 14 dias;
- O quadro clínico dermatológico, evoluiu de forma significativa até quarta e quinta semana, passando a envolver espontaneamente até a oitava semana;
- As fêmeas tiveram maior tendência à cronificação da infecção;
- A síndrome disseminada sistêmica predominou ao 30^o dia de infecção, geralmente não acompanhada de sinais clínicos extra dermatológicos. Apesar da aparente resolução clínica, houve persistência do quadro infeccioso em todos os animais, prevalecendo ao 60^o dia, as síndromes cutânea fixa nos machos e o linfocutânea e sistêmica nas fêmeas.
- Um infiltrado inflamatório composto por um centro neutrofílico, circundado por células epitelióides, linfócitos, plasmócitos, escassa presença de células gigantes e fibrose periférica foi observado em todos os animais durante todo período de infecção.

- As células fúngicas geralmente foram numerosas e pleomórficas até o 30^o dia de infecção e embora diminuíssem de intensidade ao 60^o dia, persistiram no tecido infectado ou disseminaram-se sistemicamente.
- O exame citopatológico é factível, viável, pouco invasivo, oferece material passível de análise e elementos substanciais para a complementação diagnóstica com igual sensibilidade aos exames histopatológico e cultivo fúngico, nos vários momentos da infecção.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, S. K., TIWARI, S. C., DASH, S. C., MEHTA, S. N., SAXENA, S., BENERJEE, U., KUMAR, R., BHUNYAN, U.N. Urinary sporotrichosis in a renal allograft recipient. *Nephron.*, v. 66, p. 485, 1994.
- AI- TAWFIQ, J. A., WOOLS, K. K. Disseminated sporotrichosis and *Sporothrix schenckii* fungemia as the initial presentation of human immunodeficiency virus infection. *Clin. Infect. Dis.*, v. 26, p. 1403- 6, 1998.
- ARTZ, R.P., BULLOCK, W.E. Immunoregulatory responses in experimental disseminated histoplasmosis: Lymphoid organ histopathology and serological studies. *Infect. Immun.*, v.23, p. 884-92, 1979.
- ARTZ, R.P., BULLOCK, W.E. Immunoregulatory responses in experimental disseminated histoplasmosis. Depression of T- cell dependent and T-effector responses by activation of splenic suppressor cells. *Infect. Immun.*, v.23, p. 893- 902, 1979.
- ANDRADE, B. P. J., BRUNSTEIN, R., RODRIGUES, M. R. Esporotricose: Quando gatos e proprietários são infectados. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA FELINA, 1, 1999, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro, 1999. p. 26.
- BARBEE, W.C., EWERT, A., DAVIDSON, E.M. Animal model: sporotrichosis in the domestic cat. *Am. J. Pathol.*, v.86, p. 281- 4, 1977.
- BOLAO, F., PODZAMCZER, D., VENTIN, M., GUDIOL, F. Efficacy of acute phase and maintenance therapy with itraconazole in a AIDS patient with sporotrichosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v. 13, p. 609-12, 1994.
- BRAUDE, A.I.; McCONNEL, J., DOUGLAS, H. Fever from pathogenic fungi. *J. Clin. Invest.*, v.39, p. 1226-76, 1960.
- BRUNETTE, I., STULTING, R.D. *Sporothrix schenckii* scleritis. *Am. J. Ophthalmol.*, v.114, p. 370-1, 1992.

- BRUNSTEIN, R., DAHER, G. A., OLIVEIRA, J. G. D., ANDRADE, B. P. J., SILVA, C. B. G., LUCIANO, S. A. J., FERNANDES, V.N. Esporotricose em felinos domésticos: Ocorrência em pacientes do Serviço de diagnóstico Clínicos/ Serviço de Patologia Animal do Instituto Municipal de Medicina Veterinária "Jorge Vaitsman". In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA FELINA, 1, 1999, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro, 1999. p. 25.
- CALICH, V.L.G.; PURCHIO, A. & PAULA, C.R. A new fluorescent viability test for fungi cells. *Mycopathol.*, v. 66, p. 175-77, 1978.
- CARTWRIGHT, M. J., PROMERSBERGER, M., STEVENS, G. A. *Sporothrix schenckii* endophthalmitis presenting as granulomatous uveitis. *Am. J. Ophthalmol.*, v. 77, p.61-2, 1993.
- CASTRO, L. G. M., SALEBIAN, A. Variação na frequência da esporotricose no Ambulatório de Dermatologia do Hospital das Clínicas de São Paulo entre 1966 e 1987. *An. Bras. Dermatol.*, v. 64, p. 15-9, 1989.
- CONNOLE, M.D. Review of animal mycoses in Australia. *Mycopathol.*, v. 111, p.133-64, 1990.
- COX, R. A. Immunologic studies of patients with histoplasmosis. *Am. Rev. Resp. Dis.*, v.10, p. 142-9. 1979.
- CULLEN, S.I., MAUCERI, A. A., WARNER, N. Successful treatment of disseminated cutaneous sporotrichosis with Ketoconazole. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v. 27, p.463-4, 1992.
- CRUZ, L.C.H. *Micologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Imprensa Universitária, 1985. 202p.
- DAVIES, C., TROY, G.C. Deep mycotic infections in cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v.32, p. 380-91, 1996.
- DICKERSON, C.L., TAYLOR, R.L., DRUTZ, D.J. Susceptibility of congenitally athymic (nude) mice to sporotrichosis. *Infect. Immunol.*, v. 40, p. 417-20, 1983.
- DONADEL, K. W., REINOSO, Y. D., OLIVEIRA, J. C. de, AZULAY, R. D. Esporotricose: revisão. *An. bras. Dermatol.*, v. 68, p. 45-52, 1993.

- DUNSTAN, R. W., REIMANN, K. A., LANGHAM, R. F. Feline sporotrichosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 189, p. 880-3, 1986.
- DUNSTAN, R. W., LANGHAM, R. F., REIMANN, K. A., WAKENELL, P. S. Feline sporotrichosis: a report of five cases with transmission to humans. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v. 15, p. 37-45, 1986.
- FARIAS, M. R., COSTA, P. R. S., FRANCO, S. R. V. S., ROCHA, N. S., MARQUES, S.A. Esporotricose em um gato: relato de caso com transmissão para seres humanos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 18, 1995, Vitória, *Anais...* Vitória, 1995. p.16.
- FARIAS, M. R., COSTA, P. R. S., FRANCO, S. R. V. S., FERREIRA, H. Esporotricose canina e felina. *Cães e gatos*, v.11, p. 30-8, 1997.
- FREITAS, D. C., MORENO, G., SALIBA, A. M., BOTINO, J. A., MOS, E. N. Esporotricose em cães e gatos. *Rev. Bras. Med. Vet.* v. 7, p. 381-7, 1965.
- FROMTLING, R. A., SHADOMY, J. An overview of macrophage-fungal interactions. *Mycopathol.*, v. 93, p. 77-93, 1986.
- FUKAZAWA, Y., KAGAYA, K. Host defense mechanisms against fungal infection. *Microbiol. Scienc.*, v. 5, p. 124-7, 1988.
- GOAD, D. L., GOAD, M. E. P. Osteoarticular sporotrichosis in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 189, p.1326-28, 1986.
- GONZÁLES DE POLANÍA, L.A.; ALZATE, A., SARAIVA, N. Comportamiento experimental del *Sporothrix schenckii* y la *Leishmania mexicana* en el hamster. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v.32, p.319-24, 1990.
- GREKIN, R H. Sporotrichosis: two cases of exogenous second infection. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.10, p. 233-4, 1984.
- GROSS, T. L., IHRKE, P. J.: Infectious nodular and diffuse granulomatous and pyogranulomatous diseases of the dermis. In:____. *Veterinary Dermatopathology*. St Louis: Mosby Year Book, 1992. p. 163-89.
- GROSSMAN, C.J. Regulation of the immune system by sex steroids. *Endocr. Rev.*, v.5, p.435, 1984.

- HACHISUKA, H., SASAI, Y. Development of experimental sporotrichosis in normal and modified animals. *Mycopathol.*, v.76, p.79-82, 1981.
- HIRUMA, M., KAWADA, A., NODA, T., YAMAZAKI, M., ISHIBASHI, A. Tissue response in sporotrichosis: light and electron microscopy studies. *Mycoses*, v.35, p.35-41, 1992.
- HIRUMA, M., YAMAJI, K., SHIMIZU, T., OHTA, H., KUKITA, A. Ultrastructural study of tissue reaction of mice against *Sporothrix schenckii* infection. *Arch. Derm. Res.*, v.280 (Suppl), p.94-100, 1988.
- KELLY, S. E., CLARK, W. T. Feline Sporotrichosis: A case report with zoonotic involvement. *Aust. Vet. Practit.*, v.21, p.139-142, 1991.
- KENNIS, R. A., ROSSER, E. J., DUNSTAN, R. W. Difficult dermatologic diagnosis. *J.Am. Vet. Med. Assoc.*, v.204, p.51-2, 1994.
- KIER, A. B., MANN, P. C., WAGNER, J. E. Disseminated Sporotrichosis in a cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.175, p.202-4, 1979.
- KINDARA, T., FUKUSHIRO, R. Fungal elements in tissues on sporotrichosis. *Mycosen*, v.26, p.35-41, 1982.
- KUMAR, S., KUMAR, D., GOURLEY, W.K., ALPERIN, J.B. Sporotrichosis as a presenting manifestation of hairy cell leukemia. *Am. J. Hematol.*, v.46, p.134-7, 1994.
- LARSSON, C. E., GONÇALVES, M. A.; ARAÚJO, V. C.; DAGLI, M. L. Z.; CORREA, B., FAVA NETTO, C. Esporotricose felina: aspectos clínicos e zoonóticos. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 31, p. 351-358, 1989.
- LARSSON, C. E., LUCAS, R., MALAGA, S. K., MICHALANY, N. S., GAMBALE, W. Relato de caso inabitual de esporotricose felina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 15, 1993, Rio de Janeiro, *Anais...*Rio de Janeiro,1993. p. 9.
- LAPPIN, M. R. Feline zoonotic diseases. *Vet.Clin.North.Am.Small.Anim Pract.*, v.23, p. 57-78,1993.
- LEIGH, P. C. J., Van der BASELAAR, M. T., VAN FURTH, R. Kinetics of phagocytosis and intracellular killing of *C. albicans* by human granulocytes and monocytes. *Infect. Immun.*, v.17, p.313-8, 1977.

- LONDERO, A. T.; CASTRO, R. M., FISHMAN, O. Two cases of sporotrichosis in dog in Brazil. *Sabouraudia*, v. 18, p. 273-4, 1964.
- MACEDO, M. M., COSTA, E. O. Ocorrência da esporotricose - infecção em animais da espécie bovina. *R. Bras. Med. Vet.*, v.15, p.59-68, 1978.
- MARIAT, F. E., DROUCHET, E. Sporotrichose experimentale du hamster. Observation de formes asteróides de *Sporotrichum*. *Annales Instituto Pasteur*, v.86, p.485-92, 1954.
- MARQUES, S. A., CAMARGO, R. M. P., FAGUNDES, L. K., SUETO, M., LASTORIA, J. C., DILLON, N. L. Sporotrichosis: survey and clinical aspects from Botucatu School of Medicine, state of São Paulo- Brazil, *An. Bras. Dermatol*, v.72, p.343-7, 1997.
- MARQUES, S. A., FRANCO, S. R. V. S.; CAMARGO, R. M. P.; DIAS, L. D. F.; HADDAD Jr., V., FABRIS, V. E. Esporotricose do gato doméstico (*Felis catus*): transmissão humana. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v.35, p. 324-30, 1993.
- McDONALD, E., EWERT, A., REITMEYER, J.C. Reappearance of *Sporothrix schenckii* lesions after administration of Solu-medrol to infect cat. *Sabouradia*, v. 18, p. 295-300, 1980.
- MIGLIANO, F., FREITAS, D. C., MORENO, G. Esporotricose em cães. *R.Bras. Med. Vet.*, v.7, p.225-35, 1963/64.
- MIYAJI, M., NISHIMURA, K. Defensive role of granuloma against *Sporothrix Schenckii* infection. *Mycopathol.*, v.80, p.117-124, 1982.
- MOREIRA, E. C., KASSAY, Y., BARBOSA, M. Esporotricose em asinino no Estado de Minas Gerais. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. de Minas Gerais*, v.19, p.189-91, 1967.
- MORIELLO, K. A., FRANKS, D., DIANE, D. L., KING, R. Cutaneous lymphatic and nasal sporotrichosis in a dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v.24, p.621-6, 1988.
- MOTA, N. G. S., PERAÇOLI, M. T. S., MENDES, R. P., MENDES, R. P., GATTASS, C. R., MARQUES, S. A., SOARES, A. M. V. C., IZATTO, I. C., REZKALLAH- IWASSO, M. T. Mononuclear cell subsets in patients with different clinical forms of paracoccidioidomycosis. *J. Med. Vet. Mycol.* v.26, p.105-11, 1988.

- MUSATTI, C. C., REZKALLAH- IWASSO, M. T., MENDES, E., MENDES, N. F. *In vivo* and *in vitro* evaluation of cell-mediated immunity in patients with paracoccidioidomycosis. *Cel. Immun.*, v.24, p.365-78, 1976.
- NAHAS, C. R., LARSSON, C. E., PAULA, C. R., MICHALANY, N. S., SANDOVAL, A. Esporotricose canina - relato de caso insólito. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 15, 1993, Rio de Janeiro, *Anais...* Rio de Janeiro, 1993. p. 9.
- NAKAMURA, Y., SATO, H., WATANABE, S., TAKAHASHI, H., KOIDE, K., HASEGAWA, A. *Sporothrix schenckii* isolated from a cat in Japan. *Mycoses.*, v.39, p.125-8, 1996.
- NOGUEIRA, R. H. G., GUEDES, R. M. C., CASSALI, G. D., GHELLER, V. A., MOREIRA, Y. K. Relato de esporotricose felina (*Sporothrix schenckii*) com transmissão para o homem: aspectos clínicos, microbiológicos e anatomopatológicos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.47, p.43-51, 1995.
- NUSBAUM, B. P., GULBAS, N., HORWITZ, S. N. Sporotrichosis acquired from a cat. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.8, p. 386-91, 1983.
- PENG-CHENG, L., YOSHIIKE, T., YAGUSHI, H., OGAWA, H. Histopathological studies of *Sporothrix Schenckii* - inoculated mice: possible functions of polymorphonuclear leukocytes in normal and immuno compromised (congenitally athymic nude) mice. *Mycopathol.*, v.122, p. 89-93, 1993.
- PIRATININGA, S.. Esporotricose em muar. *Rev. Fac. Med. Vet.*, v. 2, p. 219-22, 1943.
- RAFAL, E. S., RASMUSSEN, J. E. An unusual presentation of fixed cutaneous sporotrichosis : A case report and review of the literature. *J. Am. Acad. Dermatol.* v.25, p.928-32, 1991.
- RAMOS ZEPEDA, R., GONZALEZ-MENDONZA, A. Metabolic activity of phagocytes in experimental sporotrichosis. *Mycopathol.*, v. 93, p. 109-112, 1986.
- RANDHAWA, H. S., BUDIMULJA, U., BAZAZ-MALIK, G., BRAMONO, K., HIRUMA, M., KALLAVANIJAYA, P., ROJANAVANICH, V. Recent developments in the diagnosis and treatment of subcutaneous mycoses. *J. Med. Vet. Mycol.*, v.32 (Suppl. 1), p.299-307, 1994.

- READ, S. I., SPERLING, L. C. Feline sporotrichosis transmission to man. *Arch. Dermatol* v.188, p.429-31, 1982.
- RESTREPO, A., ROBLEDO, J., GOMES, I., TABARES, A. M. GUTIERREZ, R. Itraconazole therapy in lymphangitic and cutaneous sporotrichosis. *Arch. Dermatol.*, v.122, p. 413-17, 1986.
- RESTREPO, A. M., YASUDA, M. A. S. Imunologia das micoses. In: VERONESI, R., *Doenças Infecciosas e Parasitárias*. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 615-33.
- ROSSER, E. J. Sporotrichosis. In: GRIFFIN, C. E., KWOCKHA, K. W., MACDONALD, J. M. *Current Veterinary Dermatology: the science and art of therapy*. St Louis: Mosby Year Book, 1992. p.49-53.
- SALIBA, A.M., MATERA, E. A., MORENO G. Sporotrichosis in a chimpanzee. *Med. Vet. Pract.*, v.49, p.74, 1968.
- SAMPAIO, S. A. P, CASTRO, R. M., RIVITTI, E. A. Micose profundas. In: _____. *Dermatologia*. 2.ed. São Paulo, São Paulo: Artes Médicas, 2000. p.535-61.
- SCOTT, D. W., MILLER, W. H. Jr, GRIFFIN, C.E. *Muller & Kirk's: Small Animal Dermatology*. 5. Ed. Philadelphia : W.B.Saunders, 1995. 1213p.
- SHIRAISHI, A., NAKAGAKI, K., ARAI, T. Role of cell-mediated immunity in the resistance to experimental sporotrichosis in mice. *Mycopathol.*, v.120, p.15-24, 1992.
- TICORAS, C. J., SCHROETER, A. L., HORNBECK, K. L. Disseminated ulcerated papules and nodules: Cutaneous disseminated sporotrichosis. *Arch. Dermatol.* v.132, p.966-7, 1996.
- VASEN, W., TERG, R., ROBLES, A. M., ARECHABALA, A., CABANNE, A. M., MASI, J. M. Esporotricosis diseminada en un paciente con hepatopatía crónica y hepatocarcinoma: informe de un caso. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, v.14, p.514-5, 1996.
- WERNER, A. H., WERNER, B. E. Feline Sporotrichosis. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, v.15, p.1189-97, 1993.

- YAGER, J. A., WILCOCK, B. P. Nodular and/ or diffuse dermatitis. In:____.
Color atlas and text of surgical pathology of the dog and cat :
Dermatopathology and Skin tumors. London: Wolfe Publishing, 1994.
p.119-54.
- YOSHIIKE, T., PENG-CHENG, L., KOMATSUZAKI, H., OGAWA, H. Antibody
raised against extracellular proteinases of *Sporothrix schenckii* inoculated
hairless mice. *Mycopathol.*, v.123, p.69-73, 1993.
- ZAMRI-SAAD, M., SALMIYAH, T. S., JASNI, S. M., CHENG, B. Y., BASRI,
K. Feline sporotrichosis: an increasingly important zoonotic disease in
Malaysia. *Vet. Rec.*, v.127, p.480, 1990.
- ZAR, J.H. *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice-Hall, 1996. 662p.

FARIAS, M.R. Avaliação clínica, citopatológica e histopatológica seriada da esporotricose em gatos (*Felis catus* – LINNAEUS, 1758) infectados experimentalmente. Botucatu, 2000. 97pp. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Área de concentração: Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

A esporotricose é uma infecção micótica geralmente restrita aos tecidos cutâneo e linfático adjacente, causada pelo *Sporothrix schenckii*. Este trabalho tem por objetivo avaliar os aspectos clínico e dermatopatológico da esporotricose felina experimental e comparar a sensibilidade entre os exames citopatológico, histopatológico e o cultivo fúngico nas várias fases da infecção. Para tal, 20 gatos (*Felis catus*) foram inoculados subcutâneamente com 10^6 leveduras fúngicas e submetidos a exames clínico (semanal), citopatológico, histopatológico e cultivo fúngico ao 15º, 30º e 60º dias após inoculação. Cultivo fúngico de múltiplos órgãos foi realizado após sacrifício de 10 animais ao 30º e 60º dias de infecção, respectivamente. Verificou-se que as lesões clínicas da esporotricose evoluíram até a 4ª semana e involuíram espontaneamente até a 8ª semana, havendo uma tendência à disseminação e cronificação da doença, especialmente nas fêmeas. Um infiltrado inflamatório piogranulomatoso e linfocítico com escassas células gigantes e fibrose foi observado durante toda infecção. As células fúngicas foram numerosas e pleomórficas, havendo um crescimento significativo até o 30º dia e uma tendência a regressão ao 60º dia. Diferenças entre a sensibilidade dos exames citopatológico, histopatológica e cultivo fúngico não foram observadas nas várias fases da doença.

Palavras- chave: Esporotricose; Felino; Citopatologia; Histopatologia.

FARIAS, M.R. Serial Clinical, citopathological and histopathological avaliation of the sporotrichosis in cats (*Felis catus* - LINNAEUS, 1758) experimentaly infected. Botucatu, 2000. 97pp. Master Science Dissertation in Veterinary Medicine in the Mayor Field in Veterinary Clinical Science – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

SUMMARY

Sporotrichosis is a mycotic infection generally limited to the cutaneous tissues and adjacent linfatic vessels caused by *Sporothrix schenckii*. The objective of studie of to evaluate the clinical and dermatopathological aspects of experimental feline sporotrichosis and compare the sensitivity among citopathologic, histopathologic and culture for diagnosing the various phases of infection. Twenty cats (*Felis catus*) were inoculated subcutaneously with 10^6 fungic microorganisms. Clinical (weekly), citopathologic, histopathologic and culture exams were performed at 15, 30 and 60 days post-inoculation. A culture of multiple organs was performed by euthanasia in 10 animals at 30 and 60 days of infection, respectively. The lesions of sporotrichosis progressed significantly until the 30 day and spontaneous regression ocorred the 60 day, with tendency to dissemination leading to chronic disease, especially in females. An inflammatory infiltrate pyogranulatomous, lymphocytic with rare giant cells and fibrosis was observed during infection. The fungic cells were numerous and pleomorphic, growing a significantly, with tendency to regression by the 60 day. No significant diferrence was observed on sensitivity among citopathologic, histopathologic and culture exams along the different phases of the disease.

Key- words: Sporotrichosis; Feline; Citopathological; Histopathological.