



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Araçatuba

**MARIELA FONSECA TOSCANO**

**Estudo retrospectivo e espacial de diagnósticos  
anatomopatológicos da criptococose canina e felina em  
municípios do Estado de São Paulo**

**Araçatuba**

**2022**

**MARIELA FONSECA TOSCANO**

**Estudo retrospectivo e espacial de diagnósticos  
anatomopatológicos da criptococose canina e felina em  
municípios do Estado de São Paulo**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica).

Orientadora: Profa. Associada Dra. Gisele Fabrino Machado

**Araçatuba**

**2022**

T713e

Toscano, Mariela Fonseca

Estudo retrospectivo e espacial de diagnósticos anatomopatológicos da criptococose canina e felina em municípios do Estado de São Paulo / Mariela Fonseca Toscano. -- Araçatuba, 2022

66 f. : tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba

Orientadora: Gisele Fabrino Machado

1. Cryptococcus. 2. Patologia veterinária. 3. Mapas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**Título: Estudo retrospectivo e espacial de diagnósticos anatomopatológicos da criptococose canina e felina em municípios do Estado de São Paulo**

**AUTORA: MARIELA FONSECA TOSCANO**

**ORIENTADORA: GISELE FABRINO MACHADO**

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. GISELE FABRINO MACHADO (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. MÁRCIA MARINHO (Participação Virtual)  
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. ROSEMERI DE OLIVEIRA VASCONCELOS (Participação Virtual)  
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de Jaboticabal/UNESP

Araçatuba, 11 de janeiro de 2022.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Estudo retrospectivo e espacial de diagnósticos anatomopatológicos da criptococose canina e felina em municípios do Estado de São Paulo

AUTORA: MARIELA FONSECA TOSCANO

ORIENTADORA: GISELE FABRINO MACHADO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. GISELE FABRINO MACHADO (Participação Virtual)

Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra.  MÁRCIA MARINHO (Participação Virtual)

Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. ROSEMERI DE OLIVEIRA VASCONCELOS (Participação Virtual)

Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de Jaboticabal/UNESP

Araçatuba, 11 de janeiro de 2022.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

**Câmpus de Araçatuba**

**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

Título: Estudo retrospectivo e espacial de diagnósticos anatomopatológicos da criptococose canina e felina em municípios do Estado de São Paulo

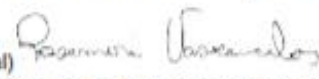
AUTORA: MARIELA FONSECA TOSCANO

ORIENTADORA: GISELE FABRINO MACHADO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA ANIMAL, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. GISELE FABRINO MACHADO (Participação Virtual)  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. MÁRCIA MARINHO (Participação Virtual)  
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Campus de Araçatuba/UNESP

Profa. Dra. ROSEMERI DE OLIVEIRA VASCONCELOS (Participação Virtual)   
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Câmpus de Jaboticabal/UNESP

Araçatuba, 11 de janeiro de 2022.

## **AGRADECIMENTOS**

À Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, por ter sido minha “casa” e referência ao longo dos últimos 10 anos.

À Profa. Dra. Gisele Fabrino Machado, por aceitar ser minha orientadora, acolher o projeto, me guiar, fortalecer meu caminho e aprendizado.

Ao Serviço de Patologia Veterinária da FMVA, por ser o local da minha trajetória durante a Residência e Pós-Graduação.

Aos Laboratórios de Patologia Veterinária, VETPAT, HISTOPAT e VETLAB Araçatuba que contribuíram imensamente para o projeto, fornecendo os resultados dos registros anatomopatológicos utilizados para o estudo retrospectivo.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo de pós-graduação em parte do mestrado.

À professora Dra. Daniela Bernadete Rozza pela participação na elaboração do artigo científico e imenso carinho durante minha trajetória acadêmica.

Aos meus pais e minhas avós, em especial a Vó Mariela, pelo apoio e amor incondicional. Sem vocês, nada disso seria possível!

Aos meus maravilhosos amigos, Bruna Games, Edenilson Frigério e Flávia Cristina, por simplesmente se resumirem em carinho, apoio e aceitação.

Aos meus animais, Violeta, Bento e Amora, por serem fonte de eterna alegria.

“O que precisamos é de mais pessoas especializadas no impossível.”  
(Theodore Roethke).

TOSCANO, M.F. **Estudo retrospectivo e espacial de diagnósticos anatomopatológicos da criptococose canina e felina em municípios do Estado de São Paulo.** 2022. 66 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

## RESUMO

A criptococose é uma importante enfermidade fúngica sistêmica, causada pelo complexo patogênico *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. Acomete humanos e diferentes espécies de animais domésticos e silvestres, e ocorre com maior frequência na espécie felina. Caracteriza-se como uma saproozoonose, pois a infecção ocorre a partir da exposição ao ambiente contaminado. As leveduras podem ser isoladas em excremento de aves, matéria orgânica em decomposição e outras diversas fontes ambientais. O presente trabalho tem como por objetivo revisar a literatura atual acerca das características epidemiológicas e clínicas e dos principais métodos de diagnóstico da infecção em cães e gatos. Exames anatomopatológicos (necropsia, histopatológico e citopatológico) são importantes ferramentas para o diagnóstico morfológico e etiológico da doença. Cães e gatos acometidos pela infecção desenvolvem alterações, principalmente, no trato respiratório, sistema nervoso central, globo ocular e tecido cutâneo. Na macroscopia são identificadas lesões planas ou nodulares, ulcerativas, exsudativas e gelatinosas. Microscopicamente são evidenciadas estruturas fúngicas leveduriformes, arredondadas a ovais, envoltas por uma espessa cápsula, junto a macrófagos, células gigantes multinucleadas, linfócitos e neutrófilos. Também foram avaliados estudos referentes ao georreferenciamento de dados e a distribuição espacial da criptococose. O geoprocessamento em saúde pode ser utilizado para análise da distribuição de casos da criptococose canina e felina no território brasileiro e para a definição de áreas de maior risco ou ocorrência da micose. No entanto, os relatos da análise espacial da criptococose no Brasil são escassos e praticamente restritos aos casos humanos.

**Palavras-chave:** *Cryptococcus*. Patologia veterinária. Mapas.

TOSCANO, M.F. **Retrospective and spatial study of pathological diagnoses of canine and feline cryptococcosis in municipalities in the State of São Paulo**. 2022. 66 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

## **ABSTRACT**

Cryptococcosis is an important systemic fungal disease, caused by the pathogenic complex *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. It affects humans and different species of domestic and wild animals, and occurs more frequently in feline species. It is characterized as a saproozoonosis, as the infection occurs from exposure to the contaminated environment. Yeasts can be isolated from bird droppings, decaying organic matter and other various environmental sources. This paper aims to review the current literature on the epidemiological and clinical characteristics of the infection and the main diagnostic methods in dogs and cats. Anatomopathological examinations (necropsy, histopathological and cytopathological) are important tools for the morphological and etiological diagnosis of the disease. Dogs and cats affected by the infection develop changes, mainly in the respiratory tract, central nervous system, eyeball and skin tissue. Macroscopically, flat or nodular, ulcerative, exudative and gelatinous lesions are identified. Microscopically, yeast-like fungal structures are evidenced, rounded to oval, surrounded by a thick capsule, together with macrophages, multinucleated giant cells, lymphocytes and neutrophils. Studies referring to the georeferencing of data and the spatial distribution of cryptococcosis were also evaluated. Health geoprocessing can be used to analyze the distribution of cases of canine and feline cryptococcosis in the Brazilian territory and to define areas of greater risk or occurrence of mycosis. However, reports on the spatial analysis of cryptococcosis in Brazil are scarce and practically restricted to human cases.

**Keywords:** Cryptococcus. Veterinary pathology. Maps.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Perfil epidemiológico de cães e gatos com diagnóstico laboratorial de criptococose, no Estado de São Paulo, entre 2014 e 2020.....	34
Tabela 2 – Registros dos exames e perfil anatomopatológico de cães e gatos com diagnóstico laboratorial de criptococose, no Estado de São Paulo, entre 2014 e 2020.....	35

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1 – Felino. Extensa lesão em face com aspecto ulcerado, exsudativo e gelatinoso.....21
- Figura 2 – Felino. Linfonodo submandibular direito aumentado de tamanho, claro e irregular .....21
- Figura 3 – Fotomicrografia de linfonodo submandibular. Proliferação moderada de leveduras arredondas, envoltas por cápsula espessa e não corada, com aspecto histológico de “bolhas de sabão” (HE, obj. 10 x) .....22

### CAPÍTULO 1

- Figura 1 – Felino. Face com lesão cutânea e subcutânea, avermelhada, ulcerada e aspecto gelatinoso.....36
- Figura 2 – Felino. Extensa lesão em plano nasal, ulcerada, exsudativa, com aspecto gelatinoso e bordos irregulares .....36
- Figura 3 – Fotomicrografia de lesão em plano nasal. Estruturas leveduriformes, envoltas por halo claro, em moderada quantidade junto a macrófagos e neutrófilos (coloração tipo Romanowsky; obj. 40x) .....36
- Figura 4 – Fotomicrografia de lesão em cérebro. Proliferação de estruturas leveduriformes, envoltas por cápsula não corada, multifocais a coalescentes, em quantidade acentuada. Infiltrado inflamatório mononuclear discreto (HE; obj. 10x) .....37
- Figura 5 - Análise temporal dos diagnósticos laboratoriais de criptococose canina e felina, no Estado de São Paulo, entre 2014 e 2020 .....37
- Figura 6 - Análise espacial da ocorrência de diagnósticos laboratoriais de criptococose canina e felina, no Estado de SP, entre 2014 e 2020 .....38
- Figura 7 - Mapa de calor para estratificação da concentração de diagnósticos de criptococose canina e felina, no Estado de SP.....39

Figura 8 - Distribuição tempo-espacial dos diagnósticos de criptococose canina e felina, no Estado de SP, entre 2014 e 2020.....	40
Figura 9 - Distribuição espacial dos diagnósticos de criptococose canina em comparação com os dados climáticos de temperatura média do ar, nos municípios do Estado de São Paulo.....	41
Figura 10 - Distribuição espacial dos diagnósticos de criptococose canina em comparação com os dados climáticos de umidade média do ar, nos municípios do Estado de São Paulo.....	41

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	14
1.1 Etiologia e Ecologia.....	14
1.2 Transmissão.....	16
1.3 Epidemiologia.....	16
1.4 Patogenia.....	17
1.5 Sinais clínicos.....	19
1.6 Diagnóstico.....	20
1.6.1 Anatomopatológico.....	20
1.6.2 Microbiológico, sorológico e molecular.....	23
1.6.3 Diferencial.....	25
1.7 Geoprocessamento em saúde.....	25
1.8 Análise espacial da criptococose.....	26
1.9 Justificativa.....	28
1.10 Objetivos.....	28
2 CAPÍTULO 1. ESTUDO RETROSPECTIVO E ESPACIAL DE DIAGNÓSTICOS ANATOMOPATOLÓGICOS DA CRIPTOCOCOSE CANINA E FELINA EM MUNICÍPIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO.....	29
2.1 Resumo.....	29
2.2 Abstract.....	30
2.3 Introdução.....	31
2.4 Material e Métodos.....	32
2.5 Resultados.....	34
2.6 Discussão.....	42
2.7 Conclusão.....	47
2.8 Referências.....	48
Apêndice A – Referência da Introdução Geral.....	52
ANEXOS.....	57

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

A criptococose é uma das micoses sistêmicas de maior ocorrência no Estado de São Paulo, e em outros estados brasileiros. A doença é causada pelo complexo patogênico *Cryptococcus gattii* e *Cryptococcus neoformans* e afeta humanos e diferentes espécies animais (MARTINS et al., 2017).

A infecção ocorre a partir da inalação de leveduras presentes em fontes ambientais contaminadas, sendo considerada uma saproozoonose. Cães e gatos doentes podem apresentar, principalmente, alterações respiratórias, neurológicas, oculares e cutâneas, isoladas ou conjuntas (MÜLLER; NISHIZAWA, 2017).

Exames anatomopatológicos e microbiológicos, associados ao histórico e quadro clínico dos animais, são importantes ferramentas para o diagnóstico conclusivo da criptococose (CASTRO et al., 2017). As análises dos dados espaciais, por meio do geoprocessamento em saúde, auxiliam na identificação das áreas e regiões do país com maior risco para a infecção fúngica (DUNCAN et al., 2010).

## 1.1 Etiologia e Ecologia

A criptococose é uma infecção causada por fungos que pertencem ao filo Basidiomycota, classe Tremellomycetes, ordem Tremellales, família Tremellaceae e gênero *Cryptococcus*. Os fungos são organismos eucariontes, isolados no solo, vegetação, água, animais e humanos. Não possuem clorofila ou celulose na sua parede celular e são capazes de produzir enfermidades em diversas espécies (GOMPERTZ et al., 2008). Apesar de o *Cryptococcus* ser um basidiomiceto com capacidade de transição para a forma filamentosa, apenas é encontrado nos tecidos dos hospedeiros na forma de levedura (unicelular) encapsulada e com morfologia característica (MARTINS et al., 2017).

O gênero engloba 70 espécies já descritas na literatura. No entanto, apenas o complexo *C. neoformans* e o *C. gattii* apresenta espécies consideradas patogênicas e de importância clínica para humanos e animais domésticos. As espécies do complexo *C. neoformans* se diferem em aspectos bioquímicos, biológicos, ecológicos, antigênico e genéticos das espécies do complexo *C. gattii* (MEGID et al., 2016). Outras espécies, incluindo *C. laurentii* e *C. albidus*, já foram isoladas em animais e humanos

e descritas como causadoras de doença, em especial nos pacientes imunossuprimidos (TRIVEDI et al., 2011).

As espécies do complexo *Cryptococcus neoformans* – *Cryptococcus gattii* podem ser diferenciadas por técnicas microbiológicas, sorológicas e moleculares. Recentemente, uma nova nomenclatura foi proposta para nova classificação do complexo patogênico (LESTER, 2011). Desse modo, atualmente, o complexo *C. neoformans* compreende as espécies *C. neoformans* variedade *grubii* (sorotipo A) e *C. deneoformans* (cepa *C. neoformans* var. *neoformans* - sorotipo D). Enquanto o complexo *C. gattii* (sorotipo B e C), anteriormente conhecido como *C. neoformans* var. *gattii*, compreende as cinco espécies: *C. gattii*, *C. bacillisporus*, *C. deuterogattii*, *C. tetragattii* e *C. decagattii* (FIGUEIREDO et al., 2016).

As estruturas fúngicas do gênero *Cryptococcus* são caracterizadas morfologicamente como leveduras ovoides ou esféricas, medindo de 3,0 a 8,0 µm de diâmetro, e circundadas por espessa, característica e protetora cápsula de mucopolissacarídeo que auxilia na evasão ao sistema imunológico do hospedeiro (KON et al., 2008). As colônias leveduriformes crescem rapidamente em meio ágar Sabouraud-dextrose, à temperatura de 25 a 37°C, no período de três a cinco dias, sendo caracterizadas pela coloração branca a creme, com aspecto brilhante e mucoso (MEGID et al., 2016).

Os agentes patogênicos da criptococose podem ser frequentemente isolados em diversas fontes ambientais, como solo, frutos e vegetais em decomposição. Os excrementos de aves, principalmente de pombos, são reservatórios que permitem a viabilidade dos fungos no ambiente por até dois anos, devido ao alto teor de compostos nitrogenados, favorecendo o crescimento dos basidiomicetos (SANTANA, 2016). No entanto, as aves dificilmente se infectam com o *Cryptococcus*, uma vez que apresentam temperatura corporal de 42°C, responsável pela inibição da multiplicação fúngica (CANAVARI, 2017).

No ambiente, outro importante nicho para o isolamento dos microrganismos inclui ocos e cascas de árvores nativas ou introduzidas no país, dissociando-se da participação exclusiva dos pombos. O *Cryptococcus gattii* foi isolado pela primeira vez em restos vegetais de eucaliptos na Austrália, no entanto é frequentemente encontrado em diferentes espécies de árvores no Brasil, como *Cassia grandis* e *Ficus microcarpa* (ARAUJO JUNIOR, 2014).

## 1.2 Transmissão

A transmissão do *Cryptococcus* para humanos e animais ocorre a partir da inalação de leveduras ou basidiósporos presentes no ambiente, que podem causar infecção pulmonar e, por disseminação hematogena, atingir outros órgãos (IANISKI et al., 2018). Por este fato, a micose se classifica como uma saproozoonose, não sendo considerada uma antropozoonose clássica, pois pessoas e animais adquirem a infecção decorrente da exposição a um ambiente contaminado (MÜLLER; NISHIZAWA, 2017). A ingestão do agente é considerada incomum, mas pode resultar em lesões no trato gastrointestinal, enquanto a penetração em feridas superficiais pode ocorrer principalmente em felinos (NELSON; COUTO, 2010).

No meio ambiente, o patógeno é provido por cápsula reduzida, o que facilita a formação de aerossóis e a inalação de partículas, diferente do que acontece no tecido humano e animal, em que a cápsula se torna espessa (MEGID et al., 2016). Desse modo, a transmissão direta entre animais e seres humanos ainda não foi descrita, pois o contato com os animais infectados não é suficiente para transmitir a doença (CANAVARI, 2017).

## 1.3 Epidemiologia

A criptococose é uma micose emergente que apresenta distribuição mundial, com relatos principalmente na Austrália, Brasil, México e Itália. Apresenta alta letalidade em humanos, sendo responsável por cerca de 625 mil mortes por ano em todo mundo (FIGUEIREDO et al., 2016).

O *C. neoformans* apresenta distribuição global e é responsável pela maioria dos casos, enquanto o *C. gattii*, originalmente limitado às regiões tropicais e subtropicais, demonstrou que pode se adaptar a regiões de clima temperado, como Estados Unidos e Canadá (MARTINS et al., 2017). De acordo com Ramos (2015), além da diferença epidemiológica na distribuição geográfica e climática entre os complexos, o nicho ecológico e o padrão imunológico dos hospedeiros também podem diferenciar os dois tipos de agentes.

A infecção causada pelo *C. neoformans*, caracterizada como oportunista, ocorre nos indivíduos em imunossupressão. Está frequentemente interligada ao

habitat das aves, devido à presença de excretas ricas em nitrogênio, o que torna microfocos urbanos, como praças e parques, em ambientes favoráveis para o crescimento fúngico. Enquanto as espécies do grupo *C. gattii* são responsáveis por infecção primária em hospedeiros imunocompetentes e estão associadas a árvores e madeiras em decomposição (DESTRO, 2016).

Em relação à ocorrência da doença em animais, a criptococose canina ainda é considerada esporádica, ao contrário do que é observado em felinos, em que esta é a causa mais comum de rinite granulomatosa. Essa diferença no padrão epidemiológico pode ser justificada pelos diferentes hábitos de cada espécie, visto que os gatos geralmente têm maior acesso à rua e contato com árvores, matéria orgânica e fezes de aves (PEREIRA et al., 2013).

Gatos e cães expostos a ambientes externos estão mais propensos a adquirir a doença. No entanto, animais domésticos mantidos em locais fechados ou em ambiente intradomiciliar também podem ser infectados, mesmo que em menor proporção, devido ao contato com poeira doméstica, solo, plantas e vaso de flores contaminados (LESTER, 2011).

## 1.4 Patogenia

A patogenicidade da criptococose depende de diversos fatores, como a virulência da cepa criptocócica e o estado de defesa do hospedeiro. Assim, a resposta imune resultante da interação entre o *Cryptococcus* e o sistema imunológico do hospedeiro é um fator determinante para a gravidade da doença. Estudos recentes, em modelos humanos e animais experimentais, buscam estabelecer o papel da imunidade inata e adaptativa no combate ao agente fúngico (MUKAREMERA; NIELSEN, 2017).

A exposição ambiental e consequente inalação das leveduras dessecadas é a principal porta de entrada para o organismo. Após a colonização e invasão do epitélio nasal, as estruturas fúngicas alcançam o trato respiratório inferior e entram em contato com os macrófagos alveolares (WOZNIAK, 2006). Também podem se multiplicar nos linfonodos, inicialmente traqueobrônquicos e em seguida nos extrapulmonares (KNOWCHUNG, 2014).

A disseminação para os outros órgãos resulta do transporte das leveduras multiplicadas dentro de macrófagos, por via hematogena e linfática (GREENE, 2015). Em cães e gatos, as leveduras apresentam predileção por locais bastante vascularizados, como sistema nervoso central, globo ocular, linfonodos e tecido cutâneo (SANTANA, 2016).

Nos tecidos, após a fagocitose e a fusão fagossomo lisossomo, a levedura sintetiza os polissacarídeos da cápsula no interior dos macrófagos. A cápsula dilui as hidrolases e as outras moléculas tóxicas dos lisossomos, separando fisicamente a levedura e a membrana do fagossomo, o que permite que os macrófagos sejam distendidos pela cápsula. Além do mais, como os macrófagos apresentam vida curta, os antígenos das cápsulas das leveduras são liberados das células mortas, o que estimula a liberação de quimiocinas e citocinas, e conseqüentemente recruta outros macrófagos no tecido. Estes processos repetitivos aumentam o volume da cápsula de mucopolissacarídeo e são os mecanismos para a formação de nódulos ou cistos preenchidos com matriz gelatinosa e que podem ser observados macroscopicamente (ZACHARY; MCGAVIN, 2013).

Os fatores de virulência das espécies patogênicas são importantes mecanismos de patogenicidade. Entre estes fatores estão a capacidade de crescimento das leveduras à 37° C, semelhante à temperatura corporal dos mamíferos, e as características morfofuncionais capazes de combater o dano oxidativo causado pelo hospedeiro (RAMOS, 2015). A primeira importante característica está ligada a presença de uma grande cápsula protetora, composta predominantemente por glicuronoxilomanana (GXM), um mucopolissacarídeo de natureza complexa, com função antifagocítica e imunossupressora (ANDRADE et al., 2017) Além disso, as espécies dos complexos patogênicos, *C. neoformans* e *C. gattii*, são as únicas do gênero capazes de produzir melanina, descrita como um pigmento que confere proteção contra as reações oxidativas e radiações ultravioletas, eliminando as espécies reativas de oxigênio que podem combater os agentes, inclusive no ambiente (GREENE, 2015). A produção de protease e urease pelas espécies patogênicas também são fatores de virulência reportados por pesquisadores, pois contribuem para a invasão e colonização dos tecidos (ANDRADE et al., 2017).

## 1.5 Sinais clínicos

Os complexos patogênicos da criptococose apresentam sinais clínicos semelhantes. Durante a anamnese e exame físico dos cães e gatos acometidos pela infecção, são identificados sinais e lesões locais ou sistêmicos, que incluem corrimento nasal, epistaxe, espirros, lesões de pele, linfadenomegalia, sinais neurológicos, hiporexia, febre e perda de peso (SANTOS; ALESSI, 2016).

De acordo com a forma de disseminação das leveduras e da resposta imunológica do paciente, a infecção por desencadear quatro síndromes principais em cães e gatos, que podem ocorrer de maneira isolada ou associada: síndrome respiratória, neurológica, ocular e cutânea (NELSON; COUTO, 2010).

A síndrome respiratória, mais frequente no felino, caracteriza-se por secreção nasal mucopurulenta, serosa ou sanguinolenta, dispneia e espirros. O aparecimento de tosse é um sintoma mais prevalente em cães (MÜLLER; NISHIZAWA, 2017). Pode ainda ocorrer a formação de nódulos cutâneos e subcutâneos sobre o plano nasal, como uma extensão da lesão respiratória, levando ao aspecto de “nariz de palhaço” (NEWMAN; SCHAIBLE, 2019).

Na síndrome neurológica, mais comum em cães, observa-se sinais como andar em círculos, ataxia, paresia e convulsões, dependendo do local da lesão. Já na síndrome ocular, também descrita com maior frequência na espécie canina, o animal pode apresentar hifema, edema papilar, midríase, opacidade de córnea e blefaroespasmos (COELHO et al., 2009).

A síndrome cutânea, com maior predileção em gatos do que em cães, ocorre preferencialmente em regiões de cabeça e pescoço e envolve o desenvolvimento de nódulos ou pápulas, firmes, múltiplos, indolores, que podem ulcerar e drenar um exsudato serosanguinolento (HERCULANO et al., 2020).

Entre os fatores que predisõem as enfermidades fúngicas nos cães e gatos estão o tratamento oncológico, desnutrição, enfermidades parasitárias e endocrinopatias (NELSON; COUTO, 2010). Felinos acometidos por agentes virais, como o vírus da leucemia e da imunodeficiência felina, apresentam maior risco de desenvolverem micoses oportunistas, quando comparados com aqueles não infectados pelos vírus (GIGER; SMITH, 2015).

## 1.6 Diagnóstico

O diagnóstico clínico da criptococose canina e felina inclui a anamnese e exame físico dos pacientes. O diagnóstico laboratorial engloba a análise das lesões anatomopatológicas e das alterações microscópicas (exame citopatológico e histopatológico), cultura e isolamento fúngico, métodos sorológicos e moleculares (SANTANA, 2016). As amostras biológicas encaminhadas para os laboratórios, representativas e adequadas, podem ser coletadas por *swab*, lavados, aspirados com agulha fina e biópsias (GREENE, 2015). Nos casos de comprometimento pulmonar e/ou neurológico, exames de imagem (radiografia simples e tomografia computadorizada) podem ser solicitados para auxiliarem na visualização de nódulos granulomatosos únicos ou múltiplos (NELSON; COUTO, 2010).

Para o diagnóstico acurado, deve-se associar o histórico do animal e os sinais clínicos aos achados nos exames laboratoriais. Análises histopatológicas e citopatológicas são importantes ferramentas diagnósticas e quando associadas às colorações especiais auxiliam na evidência dos aspectos morfológicos do agente fúngico (CASTRO et al., 2017). O diagnóstico da criptococose torna-se difícil, algumas vezes, devido a diversidade de apresentações clínicas, o que torna necessária a confirmação laboratorial e a exclusão de diagnósticos diferenciais (RIBEIRO et al., 2019).

### 1.6.1 Diagnóstico anatomopatológico

Entre os principais achados macroscópicos em animais domésticos acometidos pela criptococose destacam-se as alterações em cavidade nasal, com a presença de exsudato purulento, hemorrágico ou mucopurulento, unilateral ou bilateral e que pode se estender para plano e/ou seio nasal (CASTRO et al., 2017).

As manifestações cutâneas em cães e gatos geralmente são descritas pela formação de nódulos dérmicos ou subcutâneos, únicos ou múltiplos, polipoides ou difusos e com aspecto gelatinoso, ulcerado e exsudativo, visualizados principalmente na região da cabeça, face e membros (SANTOS; ALESSI, 2016) (Figura 1). Erosões, úlceras e fístulas em focinho, língua, leito ungueal, gengiva, palato e lábios também são verificadas nos animais doentes (HERCULANO et al., 2020).

Em casos de disseminações para linfonodos, estes são descritos como aumentados de tamanho, claros e irregulares, devido à reação local. Destaca-se o envolvimento, principalmente, de linfonodos regionais que drenam áreas afetadas pela infecção fúngica, como os submandibulares, poplíteos, mesentéricos, ilíacos e axilares (CASTRO et al., 2017) (Figura 2).

Ao exame macroscópico também podem ser identificados nódulos ou cistos com conteúdo gelatinoso, viscoso e acinzentado, únicos ou múltiplos, e de diferentes extensões em cérebro, cerebelo, pulmão e globo ocular. O aspecto gelatinoso desses nódulos ou do conteúdo dos cistos se deve à grande proliferação de leveduras nos tecidos com cápsulas mucinosas de mucopolissacarídeo (ZACHARY; McGAVIN, 2013).

**Figura 1 – Felino. Extensa lesão em face com aspecto ulcerado, exsudativo e gelatinoso. Figura 2 – Felino. Linfonodo submandibular direito aumentado de tamanho, claro e irregular.**



Fonte: Imagens gentilmente cedidas pelo Serviço de Patologia Veterinária da UNESP, campus Araçatuba.

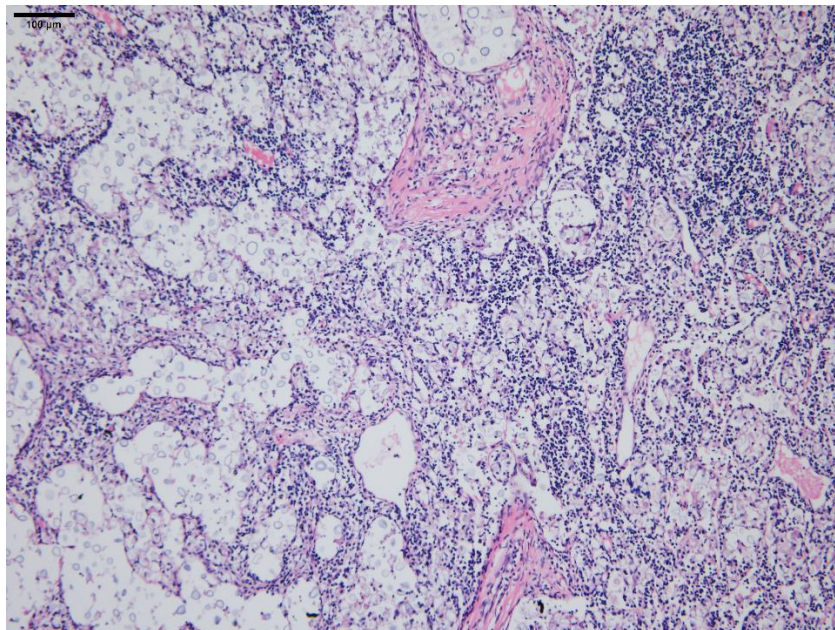
Por outro lado, as leveduras de gênero podem ser identificadas durante o exame citopatológico e/ou histopatológico dos tecidos afetados, por meio do reconhecimento detalhado das características morfológicas e histoquímicas das leveduras, o que resulta na elucidação do diagnóstico etiológico (GALIZA et al., 2014).

Quanto às lâminas histopatológicas, estas podem ser confeccionadas a partir de biopsias (excisionais ou incisionais) ou fragmentos de órgãos obtidos na necropsia. Entre as técnicas de coloração, destaca-se a Hematoxilina-Eosina (HE),

que permite a observação da reação tecidual (inflamatória) e das leveduras arredondadas e envoltas por uma cápsula não corada pela tintura (SANTOS; ALESSI, 2016). Este padrão no corte histológico característico da criptococose é descrito como um aspecto esponjoso ou como “bolhas de sabão” (ANDRADE et al., 2017) (Figura 3).

Em contrapartida, as técnicas histoquímicas de colorações especiais, como o Ácido periódico de Schiff (PAS) e Fontana Masson (FM), evidenciam a parede fúngica. No PAS, o corpo celular se cora fortemente pela cor rosa com pequena marcação da cápsula, enquanto o FM permite observar a melanina presente na parede fúngica (GALIZA et al., 2014). Podem ser observados dois diferentes padrões histopatológicos da criptococose: o granulomatoso e o gelatinoso. O primeiro caracteriza-se por inflamação acentuada e menor quantidade de leveduras; enquanto o segundo é composto por pouca ou nenhuma reação inflamatória e grande quantidade de leveduras com cápsula espessa. O infiltrado inflamatório é composto por linfócitos, neutrófilos, plasmócitos, células gigantes e macrófagos, alguns vacuolizados (CASTRO et al., 2017).

**Figura 3 – Fotomicrografia de linfonodo submandibular. Proliferação moderada de leveduras arredondas, envoltas por cápsula espessa e não corada, com aspecto de “bolhas de sabão” (HE, obj. 10 x).**



Fonte: Imagem gentilmente cedida pelo Serviço de Patologia Veterinária da UNESP, campus Araçatuba.

A citopatologia é considerada simples, minimamente invasiva, rápida e de baixo custo. Pode desempenhar importante papel no diagnóstico de doenças infecciosas, apesar de caracterizar somente o gênero e não a espécie de *Cryptococcus* (MCGILL, 2009). Os métodos de coleta variam de acordo com as características das lesões e incluem: punção biópsia aspirativa (PBA) ou citologia aspirativa por agulha fina (CAAF), *swab*, raspado ou escarificação, decalque ou *imprint* e drenagem de efusões (RASKIN, 2011). As lâminas citológicas podem ser preparadas pela coloração tipo Romanowsky (princípio do método Panótico Rápido) ou pela tinta da China ou Nanquim. Os esfregaços obtidos revelam eventuais células inflamatórias, como neutrófilos, linfócitos, macrófagos e células gigantes multinucleadas, junto às numerosas estruturas leveduriformes isoladas ou agrupadas (RAMOS, 2015). As leveduras apresentam-se com formato redondo a oval e envolto por cápsula espessa e que não se cora pelo Panótico Rápido (LESTER, 2011). O uso da tinta Nanquim (ou tinta da China) permite a observação indireta da cápsula, já que o fundo corado em preto realça a cápsula de mucopolissacarídeo não pigmentada, facilitando o diagnóstico (PEREIRA et al., 2013).

### **1.6.2 Diagnóstico microbiológico, sorológico e molecular**

O diagnóstico microbiológico, por meio da cultura fúngica, corresponde ao método padrão ouro para *C. gattii* e *C. neoformans*, segundo o *Consenso em Criptococose de 2008*. No entanto, apresenta certas limitações e divergências acerca da real sensibilidade e especificidade da técnica (RAMOS, 2015). Além do mais, a cultura fúngica permite a diferenciação entre os dois complexos patogênicos da criptococose, o que tem importante significado para a caracterização epidemiológica (TRIVEDI et al., 2011). Este método de diagnóstico pode ser realizado a partir de diferentes tipos de materiais biológicos, como lavado brônquico, líquido cefalorraquidiano, urina e conteúdo gelatinoso ou purulento dos nódulos cutâneos e subcutâneos (GREENE, 2015).

O isolamento das leveduras a partir das amostras ambientais vem sendo amplamente utilizado, a partir da coleta de dejetos secos de aves e fragmentos de material putrefado de troncos e ocos de árvores (ARAUJO JUNIOR, 2014). As colônias crescem no período de 48 a 72 horas após a incubação em placas, em temperaturas

variando entre 28 e 32° C, no meio de cultura ágar *Sabouraud*. Após o crescimento, observam-se colônias com característica mucoide a cremosa, brancacenta a amarelada, brilhante e com margem lisa (LESTER, 2011).

Quando cultivadas em meios que contem extrato de semente de Níger, como o meio ágar Níger, as leveduras são capazes de sintetizar um pigmento melânico, o qual confere uma coloração acastanhada ou marrom-escura à colônia. Esta é uma importante ferramenta para reconhecimento do gênero, uma vez que outras leveduras não sintetizam a melanina quando cultivadas no meio em questão (MEGID et al., 2016). Todas as colônias leveduriformes e características da criptococose devem ser submetidas à coloração com tinta nanquim e lactofenol-azul-algodão para análise microscópica da morfologia das leveduras. As amostras também são submetidas aos testes bioquímicos de hidrólise da ureia e termotolerância à 37°C (MUKAREMERA; NIELSEN, 2017).

A quimiotipagem, para diferenciação dos complexos patogênicos de *Cryptococcus*, utiliza o cultivo em meio ágar CGB, canavanina-glicina-azul de bromotimol (KNOW-CHUNG et al., 1982). O complexo *C. gattii* apresenta resistência a canavanina e ao azul de bromotimol, mas utiliza a glicina como fonte de carbono e nitrogênio. Ao degradar a glicina, libera amônia, alcalinizando o meio, que passa de sua cor inicial (amarelo-esverdeado) para azul, caracterizando a reação como positiva para *C. gattii* e negativa para *C. neoformans* (RAMOS, 2015).

Quanto aos métodos sorológicos amplamente utilizados em Medicina Veterinária para diagnóstico da criptococose, estes estão baseados na detecção do antígeno capsular de mucopolissacarídeo, por meio das técnicas de ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática) e de aglutinação em látex (MEGID et al., 2016).

Os testes sorológicos detectam os sorotipos conhecidos a partir do soro, líquido cefalorraquidiano e urina. Assim, proporcionam um rápido e importante diagnóstico, especialmente quando as leveduras não podem ser observadas ou cultivadas (SANTANA, 2016).

Métodos moleculares são excelentes alternativas aos métodos convencionais, inclusive para o diagnóstico da criptococose na fase inicial, por serem capazes de detectar menores cargas fúngicas e em pequenas quantidades de amostras biológicas (GRACIELE-MELO et al., 2016).

### **1.6.3 Diagnóstico Diferencial**

As enfermidades fúngicas são diagnósticos diferenciais na clínica de pequenos animais para diversas patologias de caráter infeccioso, degenerativo ou neoplásico. Sendo assim, ao exame macroscópico, a criptococose pode ser facilmente confundida com outras afecções comuns em cães e gatos, como carcinoma de células escamosas, mastocitoma, esporotricose, corpos estranhos, entre outros (PEREIRA et al., 2013).

Um estudo retrospectivo de doenças micóticas em gatos, realizado no Rio Grande do Sul, descreveu que em 13 casos com diagnóstico anatomopatológico de criptococose, foi informada a suspeita clínica em apenas oito. Desses, em quatro casos suspeitou-se de neoplasia, em um de micobacteriose e outros três ocorreu a suspeita de doença fúngica (CASTRO et al., 2017).

O aspecto ulcerativo das lesões cutâneas ou mucocutâneas, ocasionadas pela proliferação das leveduras, constitui-se numa das formas da síndrome LECMN (leishmaniose-esporotricose-criptococose-micobacteriose-neoplasia), e que pelas lesões similares, deve sempre ter sua ocorrência verificada na clínica de cães e gatos (HERCULANO et al., 2020).

## **1.7 Geoprocessamento em Saúde**

Os gregos da Antiguidade foram os precursores da representação do espaço onde se vivia por meio das primeiras projeções cartográficas. Por definição, a Cartografia é a ciência e a arte de expressar informações a partir de mapas ou cartas (IBGE, 2020). Atualmente, a cartografia tem incorporado tecnologias sofisticadas para construir mapas interativos, precisos e representativos do espaço. Assim, utiliza técnicas de Sensoriamento Remoto, Sistemas Computacionais, Sistema de Posicionamento Global (GPS) e Sistemas de Informações Geográficas (SIGs) (PROEPI, 2018).

O geoprocessamento é definido como um conjunto de tecnologias computacionais de coletas de dados georreferenciados que produz informações espacialmente referidas e contribui para o reconhecimento das condições de risco de um território (NARDI et al., 2013). O georreferenciamento de dados, sejam eles

imagens, mapas ou outras informações geográficas, é a transformação das informações em coordenadas conhecidas em um determinado sistema de referência. Para isso é necessário obter as coordenadas geográficas de latitude e longitude dos pontos de controle do mapa a ser referenciado (PROEPI, 2018).

Considerado uma área de conhecimento com interfaces entre a Cartografia, a Geografia, a Estatística e outras ciências, o georreferenciamento pode ser utilizado como um instrumento valioso para a Saúde Pública, pois permite o mapeamento de doenças e auxilia no planejamento, monitoramento e na avaliação das ações em saúde (CHIARAVALLOTI-NETO, 2017). A utilização destas técnicas desperta interesse do setor de pesquisa em saúde uma vez que permite uma visão abrangente dos indivíduos no contexto social, político, cultural e ambiental em que estão inseridos (RIBEIRO, 2018). Considera-se então o geoprocessamento em saúde um conhecimento multiprofissional somado por sanitaristas, geógrafos, epidemiologistas e outros profissionais da saúde coletiva (BARATA, 2020). Este método permite a definição de áreas de influências, a observação da intensidade de fenômenos em determinada escala (através do mapa de calor), a incidência de doenças a partir de taxas ou índices, entre outras inúmeras possibilidades de estudos (PROEPI, 2018).

A análise da distribuição espacial dos casos de determinadas doenças infecciosas apoia estudos sobre a transmissibilidade nas diferentes regiões e áreas de abrangência, permitindo um acesso rápido às informações para realização da vigilância e investigação de casos (NARDI et al., 2013).

## **1.8 Análise espacial da criptococose**

Estudos internacionais demonstram a importância do reconhecimento da distribuição espacial dos casos de criptococose em cães, gatos e outros animais domésticos e selvagens para definição do padrão de ocorrência da doença (DUNCAN et al., 2010).

Um estudo realizado na Itália e que isolou *Cryptococcus* spp. na cavidade nasal de felinos assintomáticos, utilizou o mapeamento e o georreferenciamento dos dados para a identificação e localização espacial dos animais investigados e para análise da distribuição dos casos confirmados (DANESI et al., 2014).

Outros artigos também utilizaram o georreferenciamento para estudos epidemiológicos de esporotricose e a leishmaniose em cães e gatos (D'ANDREA; GUIMARÃES, 2018; COSTA, 2019).

A utilização de análises espaciais e bancos de dados também são ferramentas valiosas para a correlação da criptococose com a presença de um desequilíbrio ambiental ou territorial. No entanto, existem poucos relatos envolvendo o geoprocessamento de casos de criptococose no Brasil e os mesmos estão praticamente restritos à ocorrência da doença em humanos (BARATA, 2020).

## **1.9. Justificativa**

Os dados oficiais sobre a criptococose canina e felina no estado de São Paulo são dispersos e escassos, por não se tratar de uma doença de notificação compulsória para animais, apesar de ser emergente. Para humanos, a infecção foi incluída na Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública por meio da publicação da Portaria MS nº 264, de 17 de fevereiro de 2020.

A criptococose é uma importante micose sistêmica que acomete cães, gatos e seres humanos em diferentes Estados brasileiros. Com o aumento no número de casos da doença no Brasil, estudos das características epidemiológicas, fisiopatológicas e microbiológicas da infecção fúngica são de grande importância para Saúde Única.

Sendo assim, estudos retrospectivos de bancos de dados de laboratórios de diagnóstico anatomopatológico veterinário e a identificação de municípios com maior ocorrência da doença auxiliam na identificação dos casos na clínica de pequenos animais e fornecem subsídios para o monitoramento e controle da doença, a partir de sistemas de informação em saúde e das vigilâncias (epidemiológica, ambiental e sanitária) nos territórios brasileiros.

## **1.10 Objetivos**

Descrever a ocorrência, o perfil epidemiológico e anatomopatológico da criptococose canina e felina, a partir de um estudo retrospectivo de dados de laboratórios de diagnóstico veterinário. Também será apresentada a distribuição temporal e espacial da infecção fúngica, as áreas de maior ocorrência de diagnósticos e a possibilidade de correlação com os dados climáticos, em municípios do Estado de São Paulo.

## **2 CAPÍTULO 1 – ESTUDO RETROSPECTIVO E ESPACIAL DE DIAGNÓSTICOS ANATOMOPATOLÓGICOS DA CRIPTOCOCOSE CANINA E FELINA EM MUNICÍPIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO**

TOSCANO, M.F. **Retrospective and spatial study of pathological diagnoses of canine and feline cryptococcosis in municipalities in the State of São Paulo.** 2022. 66 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

### **2.1 Resumo**

A criptococose é uma micose sistêmica causada pelo gênero *Cryptococcus* e que acomete humanos e animais. O presente trabalho teve por objetivo descrever o perfil epidemiológico e anatomopatológico, a ocorrência e a distribuição da infecção em 30 cães e 110 gatos residentes no Estado de São Paulo, no período de 2014 a 2020. O estudo avaliou 140 registros de necropsia, histopatologia e citopatologia, fornecidos por serviços de Patologia Veterinária. Os resultados apontaram predileção por felinos e caninos fêmeas, adultos e sem raça definida. O principal método de diagnóstico empregado foi o histopatológico, com predomínio de lesões tegumentares em cães e gatos (padrão cutâneo), não havendo diferença significativa entre espécie e localização da lesão ( $p \leq 0,827$ ). Na macroscopia foram descritos nódulos ulcerados e gelatinosos, com resultados microscópicos de inflamação granulomatosa ou piogranulomatosa de etiologia fúngica. A distribuição tempo-espacial demonstrou aumento significativo de diagnósticos em cães e gatos ao longo dos setes anos e a identificação das áreas de concentração, como Campinas e São José do Rio Preto, e a correlação com os dados climáticos dos municípios. Estudos retrospectivos de dados anatomopatológicos auxiliam na identificação de casos suspeitos e demonstram a importância do monitoramento e da vigilância da criptococose nos municípios paulistas.

**Palavras-chave:** *Cryptococcus*. Patologia veterinária. Mapas.

TOSCANO, M.F. **Estudo retrospectivo e espacial de diagnósticos anatomopatológicos da criptococose canina e felina em municípios do Estado de São Paulo**. 2022. 66 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2022.

## **2.2 Abstract**

Cryptococcosis is a systemic mycosis caused by the genus *Cryptococcus* that affects humans and animals. The present study aimed to describe the epidemiological and anatomopathological profile, occurrence and distribution of the infection in 30 dogs and 110 cats residing in the State of São Paulo, from 2014 to 2020. The study evaluated 140 necropsy, histopathology and cytopathology, provided by Veterinary Pathology services. The results showed a predilection for female cats and canines, adults and mixed breed. The main diagnostic method used was histopathological, with a predominance of integumentary lesions in dogs and cats (skin pattern), with no significant difference between species and lesion location ( $p \leq 0.827$ ). On macroscopy, ulcerated and gelatinous nodules were described, with microscopic results of granulomatous or pyogranulomatous inflammation of fungal etiology. The time-spatial distribution showed a significant increase in diagnoses in dogs and cats over the seven years and the identification of concentration areas, such as Campinas and São José do Rio Preto, and the correlation with the climatic data of the municipalities. Retrospective studies of anatomopathological data help in the identification of suspected cases and demonstrate the importance of monitoring and surveillance of cryptococcosis in the municipalities of São Paulo.

**Keywords:** *Cryptococcus*. Veterinary pathology. Maps.

## 2.3 Introdução

A criptococose é uma infecção fúngica sistêmica, de evolução subaguda à crônica e causada por fungos do gênero *Cryptococcus*. Apenas as espécies do complexo *Cryptococcus neoformans* – *Cryptococcus gattii* são consideradas patogênicas e de importância clínica para cães e gatos. As estruturas fúngicas podem ser frequentemente isoladas em diversas fontes ambientais, como solo, frutos, excretas de aves e vegetais em decomposição (Evans *et al.*, 2018).

A infecção ocorre a partir da inalação de leveduras ou basidiósporos presentes no ambiente e que por disseminação hematogênica podem atingir outros órgãos (Santana, 2016). Em relação à ocorrência da doença em animais, a criptococose canina ainda é considerada esporádica, ao contrário do que é observado em felinos, em que a alta incidência é relatada em diversos países (Mcgill *et al.*, 2009).

Os sinais clínicos em animais domésticos são divididos em quatro síndromes, com manifestação isolada ou conjunta: síndrome respiratória, neurológica, ocular e cutânea. São descritos espirros, tosse, hiporexia, lesões cutâneas, linfadenomegalia e manifestações neurológicas (Müller e Nishizawa, 2017). A criptococose é a causa mais comum de rinite granulomatosa em felinos, enquanto em caninos, o sistema nervoso central e os olhos são mais afetados pela doença (Pereira, 2013).

Macroscopicamente, há formação de nódulos polipóides ou difusos com aspecto gelatinoso ao corte, em diferentes tipos de tecidos (Santos e Alessi, 2018). A criptococose pode ser facilmente confundida com outras afecções comuns em cães e gatos, de etiologias infecciosas ou neoplásicas. Sendo assim, as análises histopatológicas e citopatológicas, somadas ao histórico clínico-epidemiológico, são importantes métodos de diagnóstico definitivo, além do uso de colorações especiais, meios de cultura fúngica e identificação molecular (Castro *et al.*, 2017).

Na microscopia, observa-se inflamação granulomatosa, constituída por macrófagos e linfócitos, com grande quantidade de estruturas leveduriformes no

interior de macrófagos ou livres no tecido. Por vezes são identificados neutrófilos íntegros ou degenerados (Santos e Alessi, 2018).

Estudos retrospectivos de diferentes bancos de dados são importantes ferramentas para análise das descrições das características epidemiológicas, clínicas e laboratoriais da patologia (Mcgill *et al.*, 2009). Estes estudos somados ao reconhecimento da distribuição espacial auxiliam na definição do padrão de ocorrência da infecção em regiões específicas, por meio do mapeamento e georreferenciamento em saúde (Duncan *et al.*, 2010). No entanto, relatos envolvendo o geoprocessamento da criptococose no Brasil, além de escassos, ainda estão praticamente restritos à incidência da doença em humanos (Barata, 2020).

O presente estudo tem como objetivo descrever o perfil epidemiológico e anatomopatológico da criptococose em cães e gatos, além da ocorrência e distribuição espacial da infecção fúngica nos municípios do Estado de São Paulo, a partir da análise retrospectiva de registros de laboratórios veterinários.

## **2.4 Material e Métodos**

Este trabalho é um estudo retrospectivo dos registros de necropsias, exames histopatológicos e citopatológicos de cães e gatos com diagnóstico de criptococose no Estado de São Paulo, no período de 2014 a 2020. Foram colhidas as informações de 140 registros de criptococose canina e felina, provenientes de quatro laboratórios de Patologia Veterinária localizados no Estado de São Paulo, sendo dois do município de Araçatuba e dois de Campinas.

A partir destes registros foi realizada uma análise do perfil epidemiológico e anatomopatológico da infecção fúngica em cães e gatos, mediante tabulação e investigação das variáveis: espécie, sexo, idade e raça dos animais; sistema do corpo acometido, padrão de lesão (macroscópica e microscópica), método de diagnóstico e exames complementares.

Em um segundo momento, foi elaborada a avaliação da distribuição temporal e espacial da doença em municípios do Estado de São Paulo, com o objetivo de evidenciar as áreas de ocorrência e concentração da doença, utilizando o método de geoprocessamento em saúde. Para isso, os endereços contidos nas fichas dos animais foram georreferenciados e convertidos em pontos de coordenadas

geográficas a partir do *Google My Maps*. Em seguida, as coordenadas de cada ponto foram inseridas no formato vetorial de dados geoespaciais, conhecidos como camada ou *shapefile*, resultando em malhas digitais. Os dados espaciais foram agrupados e divididos em 7 camadas vetoriais, uma para cada ano estudado (2014 a 2020). Posteriormente, os dados georreferenciados foram submetidos ao geoprocessamento utilizando-se o software QGIS versão 3.12, um programa livre e gratuito baseado no Sistema de Informações Geográficas (SIG). As camadas vetoriais com localizações anuais dos diagnósticos da criptococose somadas ao *shapefile* do Estado de São Paulo, obtido pelo site do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021), permitiram a elaboração dos mapas de ocorrência das infecções. As ferramentas do QGIS também permitiram a criação dos mapas de calor, pelo método de Kernel, para a visualização da distribuição espacial quanto à concentração de casos por estratos de densidade para os municípios, através da intensidade de cores.

A distribuição dos casos também foi comparada com os dados climáticos das regiões, segundo a temperatura e a umidade do ar, de acordo com as informações e camadas vetoriais previamente extraídas do site do IBGE. As condições climáticas foram classificadas de acordo com a temperatura em: clima mesotérmico brando (temperatura média anual entre 10°C e 15°C), mesotérmico mediano (média inferior a 10°C), quente (temperatura média superior a 18°C em todos os meses do ano) e subquente (temperatura média entre 15°C e 18°C durante pelo menos um mês do ano). Em relação a classificação de acordo com a umidade do ar, que é definida pela quantidade de chuvas, o clima foi dividido em: semi-árido (de 6 a 8 meses de seca), semi-úmido (de 4 a 5 meses de seca), super-úmido (sem seca) e úmido (de 1 a 3 meses de seca).

As variáveis (espécie animal e sistema do corpo acometido pela infecção fúngica) foram testadas pelo Teste Qui-Quadrado (Teste de Independência de Pearson), sendo adotado o nível de significância de 5%. Utilizou-se o programa RStudio, versão 1.2.1335.

Este projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, UNESP (Processo nº 0115/2021).

## 2.5 Resultados

No período entre 2014 a 2020, quatro laboratórios de Patologia Veterinária concluíram 140 diagnósticos de criptococose em 110 gatos e 30 cães, com amostras oriundas de 42 municípios do Estado de São Paulo. Por meio dos registros laboratoriais ou fichas de encaminhamentos foi possível elucidar o perfil epidemiológico dos casos de acordo com as variáveis sexo e idade (Tabela 1).

A avaliação racial demonstrou que 89,1% dos gatos e 33,3% dos cães eram sem raça definida (SRD). Entre as raças de felinos foram identificados cinco Siameses, um Angorá e um Persa. Quanto aos caninos, destacaram-se as raças de grande porte, sendo quatro Pastores Alemães, dois Labradores e dois Pit Bulls. Também foram registrados casos isolados das seguintes raças: Bulldog, Pug, Poodle, Fox Paulistinha, Pinscher, Rottweiler, Weimaraner, Cocker Spaniel e Schnauzer.

**Tabela 1 - Perfil epidemiológico de cães e gatos com diagnóstico laboratorial de criptococose, no Estado de São Paulo, entre 2014 e 2020**

	Total		Felino		Canino	
	(N)	(%)	(N)	(%)	(N)	(%)
<b>Sexo</b>						
Macho	56	40,0	44	40,0	12	40,0
Fêmea	67	47,9	49	44,5	18	60,0
Não identificado	17	12,1	17	15,5	0	0,0
<b>Idade</b>						
0 – 1 ano	19	13,6	13	11,8	6	20,0
2 – 7 anos	65	46,4	51	46,4	14	46,7
> 8 anos	28	20,0	21	19,1	7	23,3

Os registros laboratoriais permitiram a classificação dos exames em histopatológicos (biópsia), citopatológicos e necropsias seguidas de histopatologia. Os diagnósticos de criptococose em cães e gatos foram elucidados em sua maioria por histopatologia, por meio de análises de biópsias e peças cirúrgicas. Quanto à associação a outros métodos diagnósticos, em apenas 11 casos foi utilizada a técnica histoquímica de coloração PAS (Ácido Periódico de Schiff). Quatro registros em felinos descreveram o uso de cultura fúngica para identificação e diferenciação das espécies do complexo patogênico, *C. gattii* e *C. neoformans* (Tabela 2).

**Tabela 2 – Registros dos exames e perfil anatomopatológico de cães e gatos com diagnóstico laboratorial de criptococose, no Estado de São Paulo, entre 2014 e 2020**

	Total		Felino		Canino	
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
<b>Exame</b>						
Histopatológico	93	66,4	73	66,4	20	66,7
Citopatológico	43	30,7	35	31,8	8	26,7
Necropsia	4	2,9	2	1,8	2	6,7
<b>Sistema</b>						
Tegumentar	56	40,0	47	42,7	9	30,0
Respiratório	16	11,4	12	10,9	4	13,3
Digestório	6	4,3	5	4,5	1	3,3
Linfático	9	6,4	6	5,5	3	10,0
Sistêmico	9	6,4	7	6,4	2	6,7
Não informado	44	31,4	33	30,0	11	36,7
<b>Complementar</b>						
Ausente	125	89,3	97	88,2	28	93,3
PAS	11	7,9	9	8,2	2	6,7
Cultura fúngica	4	2,8	4	3,6	0	0,0

Na tabela 2 também foram descritos os sistemas do organismo dos cães e gatos acometidos pela infecção fúngica. A criptococose canina e felina apresentou predileção por tecido cutâneo (sistema tegumentar) em 40% dos relatos, com lesões em face (plano nasal), membros ou tronco. As alterações em sistema respiratório foram visualizadas em cavidade nasal e pulmões, enquanto no sistema digestório foram observadas na cavidade oral e intestino. Quanto ao sistema linfático, a maioria das lesões eram descritas em linfonodos submandibulares. Não houve associação entre o sistema acometido pela infecção e a espécie animal avaliada ( $p \leq 0,827$ ).

Em relação aos nove casos com manifestações multissistêmicas foram descritos envolvimento do sistema urinário e cardiovascular, associados ou não a lesões cutâneas, respiratórias ou linfáticas. Em três felinos haviam proliferação fúngica em cérebro e cerebelo de maneira concomitante ao sistema respiratório e linfático.

Nos registros macroscópicos, as descrições das lesões relataram a presença de nódulos e lesões em placa ulcerados ou fragmentos teciduais irregulares, de tamanhos e colorações variadas, com aspecto predominantemente friável a gelatinoso (Figuras 1 e 2).

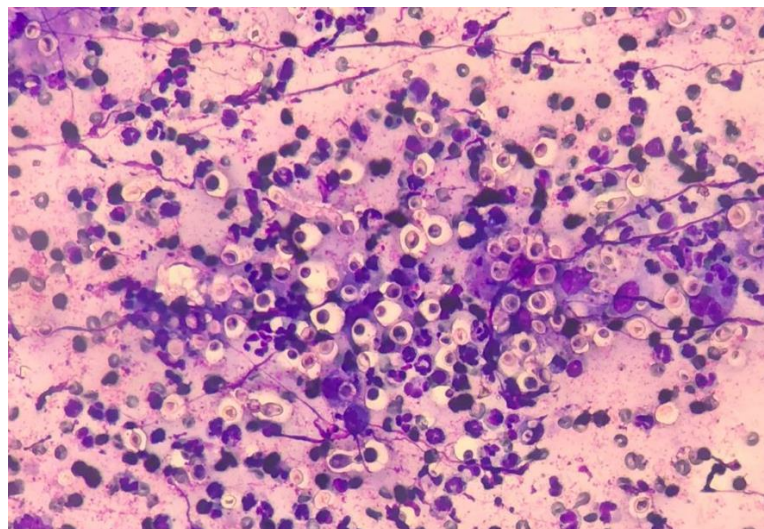
**Figura 1 – Felino. Face com lesão cutânea e subcutânea, avermelhada, ulcerada e com aspecto gelatinoso. Figura 2 – Felino. Extensa lesão em plano nasal, ulcerada, exsudativa, com aspecto gelatinoso e bordos irregulares.**



Fonte: Imagens gentilmente cedidas pelo Serviço de Patologia Veterinária da UNESP, campus Araçatuba.

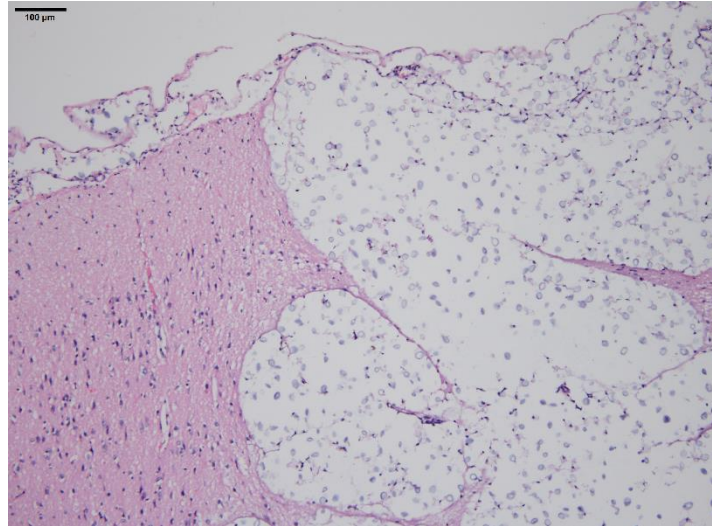
Na microscopia (histopatologia ou citopatologia) foram identificados linfócitos, macrófagos, células gigantes multinucleadas e por vezes neutrófilos, associados a estruturas leveduriformes, arredondas a ovoides, com centro basofílico e envoltas por espesso halo gelatinoso, compatíveis com o gênero *Cryptococcus* (Figuras 3 e 4). Desta maneira, as alterações foram classificadas em inflamações granulomatosas ou piogranulomatosa de origem fúngica.

**Figura 3 - Fotomicrografia de lesão em plano nasal. Estruturas leveduriformes, envoltas por halo claro, em moderada quantidade junto a macrófagos e neutrófilos (coloração tipo Romanowsky; obj. 40x).**



Fonte: Imagem gentilmente cedida pelo Serviço de Patologia Veterinária da UNESP, campus Araçatuba.

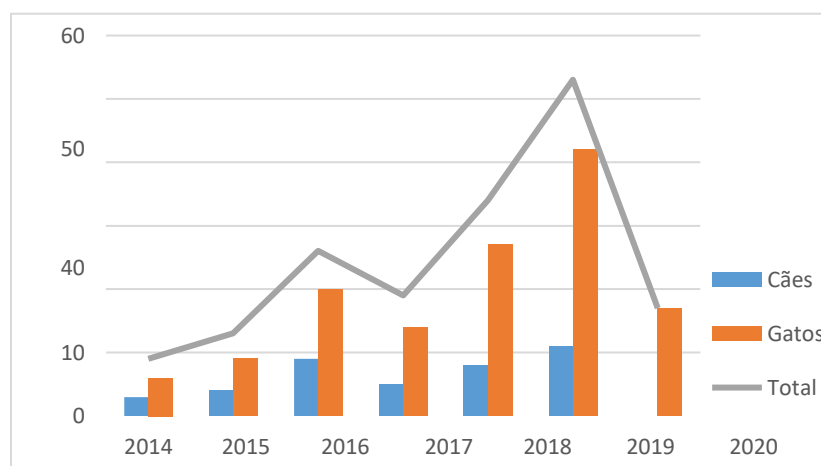
**Figura 4 - Fotomicrografia de lesão em cérebro. Proliferações de estruturas leveduriformes, envoltas por espessa cápsula não corada, multifocais a coalescentes em quantidade acentuada. Infiltrado inflamatório mononuclear discreto (HE; obj. 10x).**



Fonte: Imagem gentilmente cedida pelo Serviço de Patologia Veterinária da UNESP, campus Araçatuba.

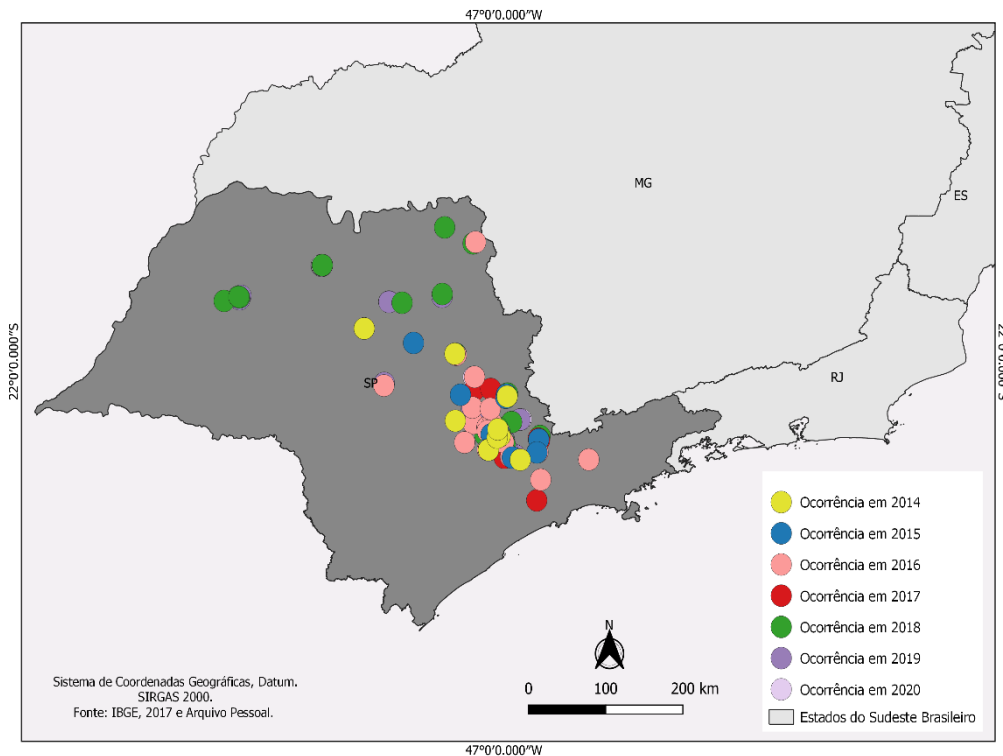
A análise temporal dos registros de 2014 a 2020 demonstrou um significativo aumento no número de diagnósticos de criptococose canina e felina realizados pelos quatro laboratórios de Patologia Animal do Estado de São Paulo. A frequência observada em 2019 representa 5,5 vezes o número de casos em 2014 (Figura 5).

**Figura 5 - Análise temporal dos diagnósticos laboratoriais de criptococose canina e felina, no Estado de São Paulo, entre 2014 e 2020**



A avaliação da distribuição espacial, a partir de registros laboratoriais, permitiu identificar a ocorrência de 140 casos distribuídos por 42 municípios paulistas, ao longo dos sete anos considerados (Figura 6).

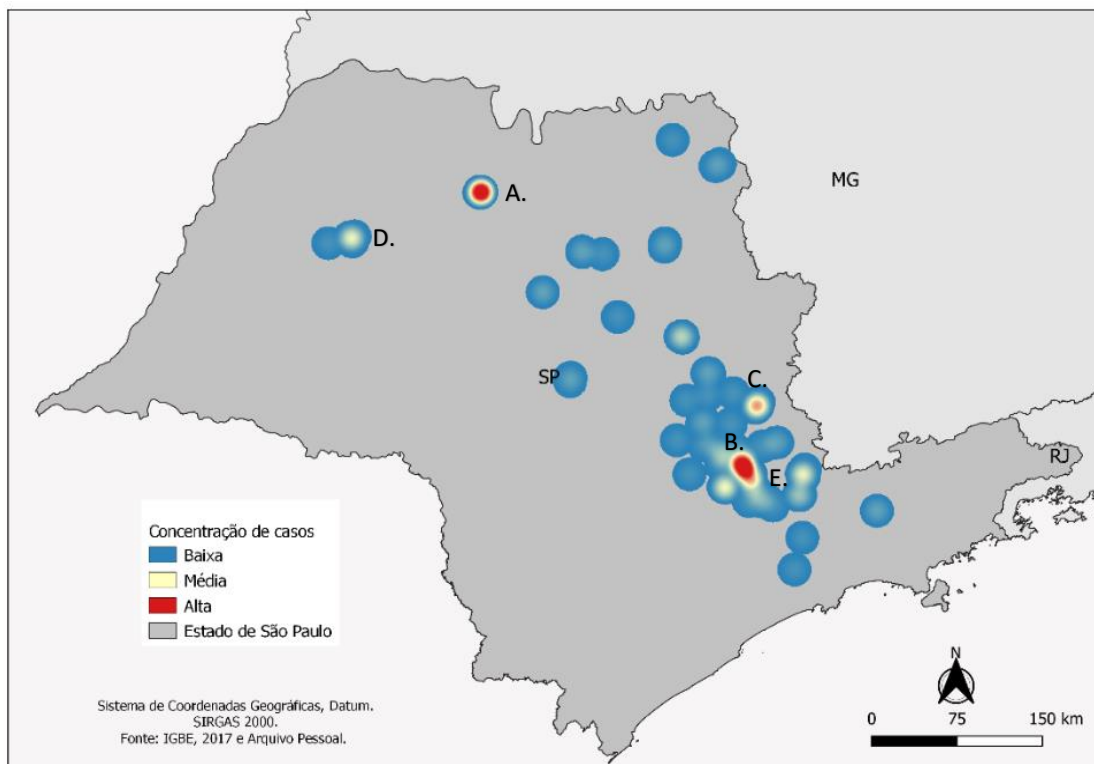
**Figura 6 - Análise espacial da ocorrência de diagnósticos laboratoriais de criptococose canina e felina, no Estado de São Paulo, entre 2014 e 2020**



Fonte: Arquivo pessoal.

Por meio do método de Kernel foi possível elaborar o mapa de calor para a estratificação das áreas de concentração de diagnósticos da infecção fúngica, classificadas em baixa (1 a 6 casos), média (7 a 13 casos) e alta concentração (acima de 14 casos). Assim, os municípios paulistas com alta concentração de diagnósticos foram São José do Rio Preto e Campinas; média em Araçatuba, Mogi Mirim e região metropolitana de Campinas; e baixa nos demais municípios do Estado de São Paulo (Figura 7).

**Figura 7 - Mapa de calor para estratificação da concentração de diagnósticos laboratoriais de criptococose canina e felina, no Estado de São Paulo, entre 2014 e 2020**

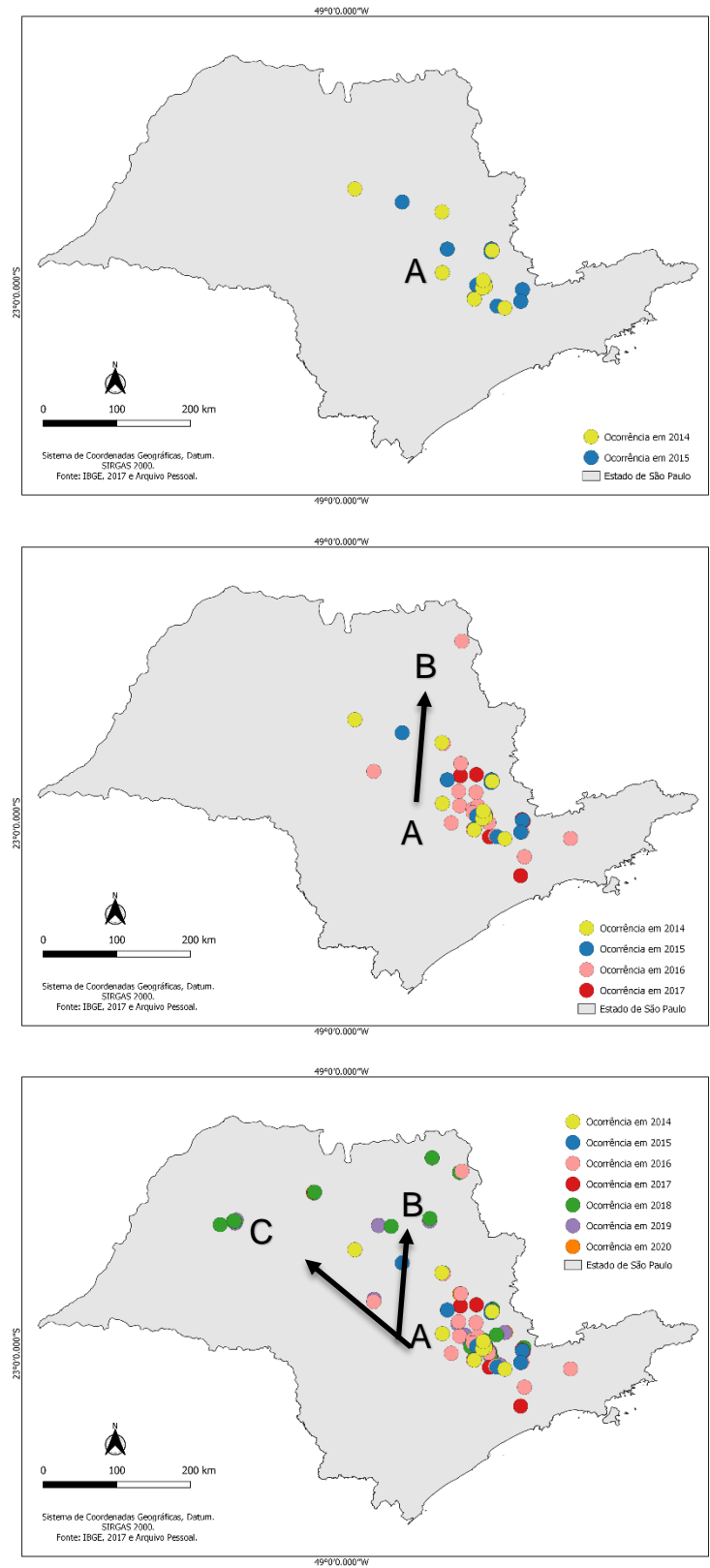


Fonte: Arquivo pessoal. Legenda: A. São José do Rio Preto. B. Campinas. C. Mogi Mirim. D. Araçatuba. E. Região metropolitana de Campinas (Hortolândia, Paulínia, Valinhos e Sumaré).

A distribuição tempo-espacial da criptococose canina e felina permitiu identificar que entre 2014 e 2017, a maioria dos casos estavam restritos ao Leste Paulista, com maior número de ocorrências na região metropolitana de Campinas. A partir de 2018, os diagnósticos também foram registrados nos municípios do Norte (como Ribeirão Preto e Franca) e Noroeste Paulista (Araçatuba e São José do Rio Preto) (Figura 8).

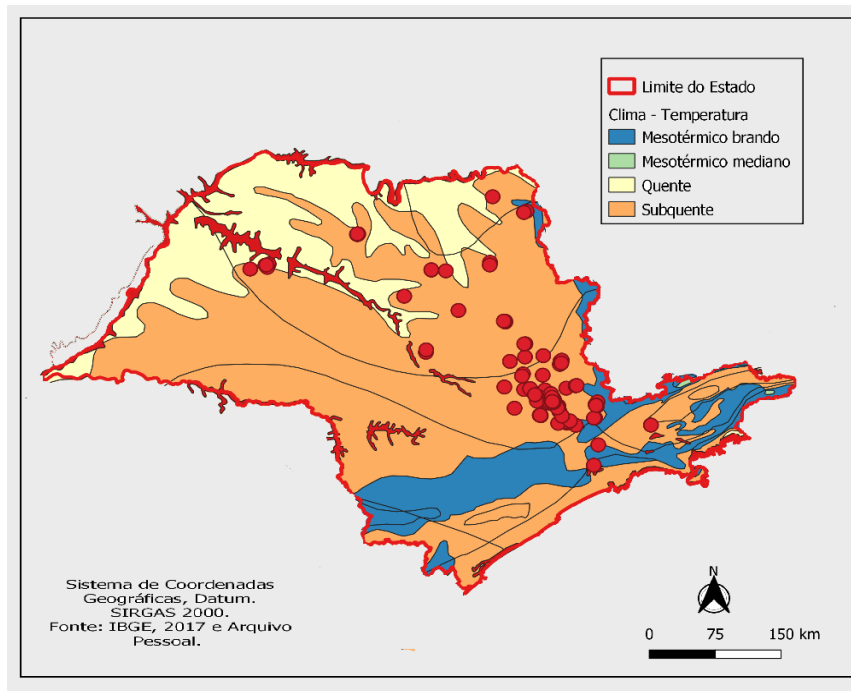
A análise da distribuição dos diagnósticos comparada aos dados climáticos das regiões do Estado de São Paulo, segundo a temperatura e a umidade do ar, permitiu elucidar a predominância da ocorrência da criptococose canina e felina em municípios localizados em áreas subquentes ou quentes, com temperaturas médias anuais elevadas, e úmidas ou semi-úmidas, com períodos de seca curtos ou ausentes (Figura 9 e Figura 10).

**Figura 8 - Distribuição tempo-espacial dos diagnósticos laboratoriais de criptococose canina e felina, no Estado de São Paulo, entre 2014 e 2020**



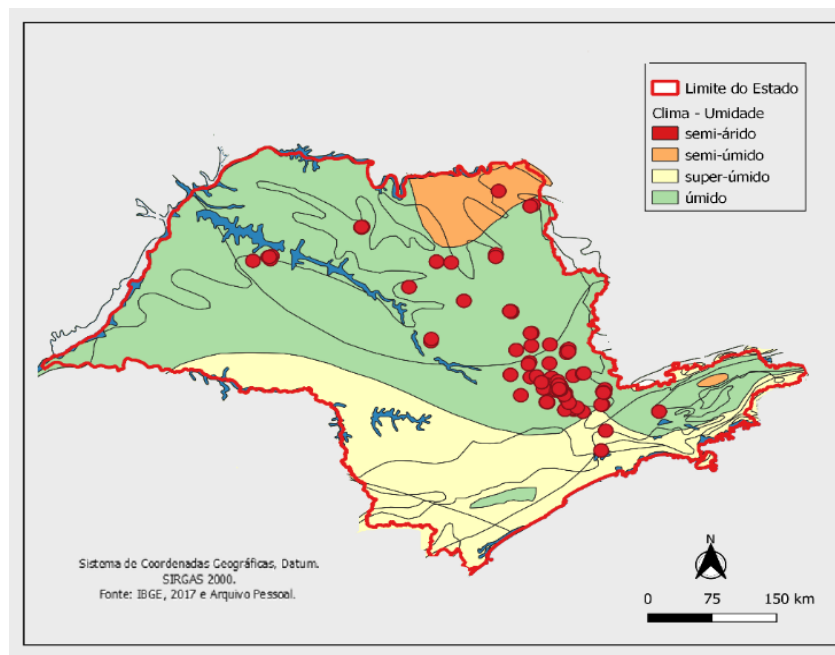
Fonte: Arquivo pessoal. Legenda: A. Leste Paulista. B. Norte Paulista. C. Noroeste Paulista. Setas: sentido da distribuição dos casos.

**Figura 9 - Distribuição espacial dos diagnósticos laboratoriais de criptococose canina e felina em comparação aos dados climáticos de temperatura média do ar, nos municípios do Estado de São Paulo.**



Fonte: Arquivo pessoal.

**Figura 10 - Distribuição espacial dos diagnósticos laboratoriais de criptococose canina e felina em comparação aos dados climáticos de umidade média do ar, nos municípios do Estado de São Paulo**



Fonte: Arquivo pessoal.

## 2.6 Discussão

Diferentes estudos isolaram as espécies do complexo patogênico *Cryptococcus neoformans* - *Cryptococcus gattii* em amostras clínicas (humanas e animais) e ambientais em diferentes municípios do Estado de São Paulo (Bruchi *et al.*, 2009; Araújo Júnior, 2015). Entretanto, não foram identificados trabalhos que descrevessem a ocorrência e a distribuição da criptococose em animais domésticos abrangendo compilados de registros de diagnósticos anatomopatológicos em 42 (quarenta e duas) cidades paulistas.

Semelhante ao observado neste estudo retrospectivo, a criptococose ocorre mais frequentemente em felinos, quando comparados aos outros animais domésticos (Canavari *et al.*, 2017). Uma pesquisa realizada na Austrália demonstrou que os gatos eram de cinco a seis vezes mais suscetíveis a desenvolverem a doença do que os cães (McGill *et al.*, 2009). Essa diferença no padrão epidemiológico sugere uma maior suscetibilidade felina à infecção e pode ser justificada pelos diferentes hábitos da espécie, visto que os gatos geralmente têm maior acesso à rua e contato com árvores, matéria orgânica e excretas de aves (Pereira, 2013).

McGill e pesquisadores (2009) relataram que 53,6% dos 57 cães estudados com criptococose eram fêmeas e a idade média da população era de 2,5 anos, considerados jovens adultos. Os 72 felinos relatados no mesmo estudo também eram em sua maioria fêmeas, mas com idade média de 7,5 anos. Os resultados apresentados quanto ao sexo dos animais domésticos diagnosticados no Estado de São Paulo corroboram com os dados descritos acima. Quanto à idade dos animais, tanto caninos quanto felinos eram predominantemente adultos, de 2 a 7 anos. Pesquisadores não confirmaram explicações para a provável predileção da infecção por cães e gatos fêmeas (Coelho *et al.*, 2009). Para a diferença entre as faixas etárias relatadas, o aparecimento de lesões em adultos pode explicado por fatores de imunossupressão, como agentes virais, tratamento oncológico, corticoterapia prolongada e endocrinopatias (Castro *et al.*, 2017).

A criptococose é tipicamente relatada em cães de raças de grande porte, incluindo Pastor Alemão, Pitt Bull e Labrador, como visto neste levantamento de dados (Coutinho e Pereira, 2003). A maior frequência em cães de grande porte pode ser influenciada pela criação em ambientes abertos, como quintais e jardins, e atividades

de guarda, diferente de pequenas raças que vivem preferencialmente no intradomicílio (Pereira, 2013). Em contrapartida, a predominância de registros anatomopatológicos da criptococose em cães e gatos sem raça definida nos municípios paulistas pode ser observada, uma vez que censos realizados no Brasil demonstram que a maioria dos animais domésticos não apresentam raça definida (Doghero, 2016). Segundo Coelho e colaboradores (2009), gatos da raça Siamesa estão mais propensos a desenvolverem a infecção, fato que pode estar associado a predisposição genética à criptococose ou ao desenvolvimento de comorbidades imunossupressoras, como o a rinotraqueíte viral, o que poderia justificar a maior ocorrência de lesões anatomopatológicas na raça, como descrito neste estudo.

Apesar deste trabalho não ter tido acesso ao histórico clínico dos animais diagnosticados pelos laboratórios de Patologia, deve-se ressaltar que a infecção fúngica, principalmente causada pela espécie *Cryptococcus neoformans*, acomete preferencialmente indivíduos imunossuprimidos (Müller e Nishizawa, 2017). Situações de acúmulo de animais, com conseqüente condições higiênico-sanitárias inadequadas, resultam em uma variedade de enfermidades infecciosas, incluindo micoses sistêmicas (Tommaso, 2017).

A indagação referente ao acesso à rua ou passeios rotineiros também poderiam justificar o aparecimento de lesões de etiologia fúngica nos animais estudados. Em Araçatuba, Araújo Júnior (2015) isolou leveduras do gênero *Cryptococcus* em troncos e ocos de árvores presentes nas praças e parques da cidade. Estes locais representam importantes microfocos ambientais por apresentarem grande fluxo de pessoas e animais domésticos, o que pode explicar a média concentração de casos em cães e gatos da cidade de Araçatuba, identificados por este trabalho.

Um estudo retrospectivo das principais morbididades fúngicas em felinos domésticos, elaborado por um serviço de Patologia Veterinária de Santa Catarina, relatou casos de criptococose por meio de métodos de diagnóstico anatomopatológico semelhantes aos utilizados neste trabalho paulista. Entre os 19 relatos, seis foram diagnosticados mediante necropsia, dez por exame histopatológico e três por citopatológico (Castro *et al.*, 2017).

A predileção dos quatro laboratórios e seus respectivos patologistas pela utilização de técnicas histológicas básicas, como Hematoxilina-Eosina e PAS, pode

ser explicada pelo fato de que estas colorações permitem a avaliação dos tipos de reações teciduais dos cães e gatos acometidos pela infecção e a visualização dos numerosos e característicos microrganismos esféricos ou ovais circundados por halo claro não corado pelas técnicas citadas, compatíveis com o gênero *Cryptococcus* (De Andrade *et al.*, 2017).

Foi observada escassa utilização de cultura fúngica como meio de diagnóstico confirmatório ou complementar nos casos registrados pelos quatro laboratórios paulistas, sendo os únicos quatro isolamentos fúngicos encaminhados pelo serviço de Patologia ao Laboratório de Microbiologia pertencentes à Universidade Estadual Paulista, campus de Araçatuba. Segundo o Consenso em Criptococose, publicado em 2008, as culturas fúngicas são métodos sensíveis que podem diferenciar as espécies patogênicas do complexo *C. neoformans* - *C. gattii*, através do meio CGB (L-Canavanina, Glicina, Azul de Bromotimol), tendo importante significado para a caracterização epidemiológica dos relatos, principalmente em relação às prováveis fontes de infecção.

Diferente dos resultados observados, em que não foram identificadas lesões em cérebro e cerebelo dos 30 cães avaliados, estudos demonstraram que a maioria dos casos de criptococose canina estão relacionados às alterações no sistema nervoso central. Lester e colaboradores (2004) avaliaram 15 casos da infecção em cães e dentre estes, 60% apresentaram sinais neurológicos. A meningite ou meningoencefalite felina associada ao *Cryptococcus* também foi descrita por Coelho e colaboradores (2009) e identificada em três relatos do estudo retrospectivo. A ausência de alterações neurológicas em caninos e a baixa ocorrência nos felinos estudados podem ser justificadas por dois fatores: tipo de casuística dos quatro laboratórios de Patologia Veterinária, que recebem em sua maioria, solicitações de análises histopatológicas e citopatológicas de lesões dermatológicas de cães e gatos; ausência de descrições do histórico clínico dos animais nas requisições encaminhadas aos laboratórios, dificultando a associação dos casos a possíveis manifestações sistêmicas e neurológicas.

Outro resultado deste estudo que não corrobora com a literatura atual foi a elevada identificação de lesões dermatológicas nos cães, mesmo sendo a forma cutânea considerada incomum para a espécie. Para Herculano (2020), a baixa casuística da criptococose em cães e os sinais clínicos com lesões de pele

semelhantes a outras enfermidades, dificulta o diagnóstico e o encaminhamento de amostras aos laboratórios. Assim, foi vista a importância destes relatos para a inclusão da criptococose no diagnóstico diferencial de dermatopatias em cães.

Em contrapartida, o padrão dermatológico é comumente encontrado na espécie felina e foi descrita em 56 gatos do Estado de São Paulo. Está caracterizado, principalmente, pela formação de nódulos no tecido cutâneo e subcutâneo sobre a cartilagem do plano nasal, levando ao aspecto de “nariz de palhaço”, conforme descrito nos resultados macroscópicos (Coutinho e Pereira, 2003). Estes nódulos granulomatosos em plano nasal podem ser considerados uma extensão da infecção primária em vias aéreas superiores, apesar de existirem relatos de lesões isoladas na pele decorrentes da inoculação direta do agente (Newman e Schaible, 2019).

A proliferação fúngica no sistema respiratório, em especial na cavidade nasal, conforme relatado nos registros macro e microscópicos, está bem documentada na espécie felina. No entanto, evidências da infecção em vias aéreas inferiores parecem ser raras (Lester *et al.*, 2004). As alterações macroscópicas e microscópicas, registradas pelos laboratórios, no sistema cardiovascular, digestório, linfático ou multissistemas de cães e gatos também foram relatadas em estudos retrospectivos (Mcgill *et al.*, 2009).

Ao final do levantamento dos bancos de dados dos laboratórios foi possível concluir que não houve diferença estatística significativa entre a espécie (felina e canina) e os sistemas do organismo acometidos pela infecção. Assim, cães e gatos apresentaram maior frequência de lesões macroscópicas e microscópicas em sistema tegumentar, seguido de respiratório, digestório, linfático e multissistêmico, sendo a via respiratória a provável porta de entrada do agente infeccioso. Entretanto, as predileções por diferentes sítios anatômicos para cada espécie são evidenciadas na literatura. Novamente, o padrão cutâneo da criptococose dos cães e gatos estudados poderia ser justificada pela casuística dos laboratórios, tipos de amostras encaminhadas e métodos de coleta (Pennisi *et al.*, 2013).

Neste levantamento evidenciou-se que as alterações anatomopatológicas foram descritas de maneira similar à literatura, com formações de nódulos polipoides ou difusos, únicos ou múltiplos, ulcerados, com aspecto gelatinoso e exsudato viscoso a mucoide ao corte (Zachary e McGavin, 2013).

Devido ao predomínio de amostras colhidas por biópsias incisionais ou punção biópsia aspirativa (PBA) e escassas descrições do histórico e sinais clínicos nas requisições encaminhadas aos Médicos Veterinários Patologistas, não foi possível identificar o sistema ou tecido lesionado em 44 registros.

As descrições microscópicas incluíram a presença de infiltrado inflamatório composto por linfócitos, macrófagos e neutrófilos, em quantidade variando de discreta à acentuada, junto à abundante quantidade de estruturas com formato arredondado a ovoide, envoltas por grande halo pouco corado, em conformidade com as descrições de Castro *et al.* (2017). De acordo Zachary e McGavin (2013) a criptococose normalmente apresenta reação inflamatória discreta e este fato pode ser explicado pela presença da cápsula de mucopolissacarídeo que possui propriedades que dificultam a fagocitose de macrófagos e ainda interfere na migração de neutrófilos para os tecidos.

As análises temporal e tempo-espacial de 2014 a 2020 apontaram um aumento no número de diagnósticos anatomopatológicos de criptococose canina e felina nos 42 municípios avaliados e uma dispersão de relatos do Leste para Norte e Noroeste Paulista, a partir de 2018. Entretanto, não seria possível, efetivamente, traçar uma comparação com outros bancos de dados veterinários, pela escassez de dados oficiais sobre a criptococose em animais domésticos, por não se tratar de uma doença de notificação compulsória (Santos, 2018). Por outro lado, este aumento pode ser justificado pelo acréscimo de envio de amostras biológicas para diagnóstico e expansão na casuística dos laboratórios de Patologia Animal, localizados em Campinas e Araçatuba.

Os municípios com alta e média concentração de casos, além de próximos geograficamente aos laboratórios incluídos neste estudo, já haviam isolado as espécies do complexo patogênico (*C. gattii* e *C. neoformans*) em amostras clínicas e ambientais. Bruchi e pesquisadores (2009) realizaram um levantamento da ocorrência de *Cryptococcus neoformans* nas narinas de 57 gatos da região de Campinas, portadores ou não de doenças respiratórias. Em Araçatuba, troncos e ocos de árvores localizados em praças e parques constituem-se em microfocos para o agente (Araújo Júnior, 2015). Na região de São José do Rio Preto, os pesquisadores realizaram isolamento apenas em amostras ambientais e clínicas de pacientes humanos, para avaliação de genotipagem e resistência aos antifúngicos (Barboza, 2011).

Este estudo demonstrou a ocorrência de diagnósticos de criptococose em cães e gatos e sua possível associação aos fatores geoclimáticos do Estado de São Paulo. Sabe-se que as espécies patogênicas do gênero *Cryptococcus* apresentam capacidade de crescimento em temperatura e umidade elevadas. Assim, as colônias crescem geralmente após 48 a 72 horas de incubação, em temperaturas entre 28-32°C (Ramos, 2015). Dessa forma, os casos diagnosticados pelos serviços de Patologia Veterinária foram descritos preferencialmente em municípios com clima quente ou subquente e úmido.

Para Baltazar e Ribeiro (2008), cidades com condições climáticas de temperaturas médias elevadas, mas pouco sombreamento não propiciam a ocorrência do fungo. Deste modo, municípios com clima tropical, temperatura média anual próximo a 19°C e elevadas precipitações pluviométricas se demonstram ideais para o crescimento das leveduras (Destro, 2016). Ressalta-se que as estações do ano também podem influenciar no crescimento fúngico. De acordo com Araújo Júnior (2015), entre os meses de novembro a dezembro, período de maior umidade no município de Araçatuba, as colônias sugestivas de *Cryptococcus* apresentavam, ao exame microscópico, suas estruturas nítidas e de fácil observação, justificando que o principal fator que corrobora para a inviabilidade da levedura no ambiente é a baixa umidade do ar.

## **2.7 Conclusão**

As análises histopatológica, citopatológica e necroscópica são importantes ferramentas para diagnóstico da criptococose em cães e gatos. A descrição de um perfil epidemiológico e anatomopatológico pode auxiliar os médicos veterinários na identificação de animais susceptíveis e de lesões macroscópicas e microscópicas compatíveis com a doença, permitindo a inclusão da infecção fúngica em diagnósticos diferenciais, principalmente de dermatopatias, na rotina de pequenos animais.

De acordo com o estudo retrospectivo de diagnósticos anatomopatológicos da criptococose em cães e gatos, realizados em laboratórios paulistas no período de 2014 a 2020, conclui-se que a doença ocorreu em diferentes municípios do Estado de São Paulo, com alta concentração de casos em Campinas e São José do Rio Preto, locais onde as condições ambientais, de temperatura e umidade do ar, são favoráveis

para o crescimento fúngico. Além disso, houve um aumento no número de casos diagnosticados em cães e gatos nos últimos anos, o que demonstra a importância do monitoramento e da vigilância da infecção nas cidades paulistas.

## 2.8 Referências

ARAÚJO JÚNIOR, E. C. *Cryptococcus: environmental isolation and biochemical characterization*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 67, n. 4, p. 1003-1008, 2015.

BALTAZAR, L.M.; RIBEIRO, M.A. Primeiro isolamento ambiental de *Cryptococcus gattii* no Estado do Espírito Santo. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v.41, n.5, p.449-453, 2008.

BARATA, R. S.; VIEIRA, C. M.; OLIVEIRA, R.A.C; GUEDES, J.A.; GONÇALVES, N.V. A meningite criptocócica: análise espacial, epidemiologia e fatores de risco no estado do Pará, Amazônia oriental brasileira. Hygeia-Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde, v. 16, p. 74-83, 2020.

BARBOZA, L.S. Estudo microbiológico: amostragem de *Cryptococcus* sp em São José do Rio Preto/SP. 2011.

BRUCHI, W.; NICOLUTTI, R.; CARMONA CASTRO, R. Levantamento prospectivo da ocorrência de *Cryptococcus neoformans* nas narinas de gatos portadores ou não de doenças respiratórias atendidos no Hospital Veterinário e Fazenda Escola da Faculdade Comunitária de Campinas–Unidade III e Região de Campinas. Anuário da produção de iniciação científica discente, v. 11, n. 12, p. 253-262, 2009.

CANAVARI, I. C.; VARGAS, G.H.; TINUCCI-COSTA, M; CAMPLESI, A.C. Criptococose: revisão de literatura. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, v. 18, n. 9, p. 1-5, 2017.

CASTRO, N. B.; ROLIM, V; FERREIRO, L; DRIEMEIER, D. Doenças micóticas em gatos no Rio Grande do Sul. Pesquisa veterinária brasileira. Vol. 37, no. 11 (Nov. 2017), p. 1313-1321, 2017.

COELHO, H. E.; MOURA, L.R.; ORPINELLI, S.R.T; KOCK, G.P.; MACHADO, F.M.R.; JÚNIOR, A.F. Cryptococcus neoformans associado à Meningite Felina em Uberaba, MG: Relato de caso. Veterinária Notícias, v. 15, n. 1, 2009.

Consenso em criptococose – 2008. Relatório Técnico. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 41(5):524-544, set-out, 2008.

COUTINHO, S. D. A; PEREIRA, A. P. C. Criptococose em cães e gatos– revisão. Clínica Veterinária, v. 45, p. 24-32, 2003.

DE ANDRADE, I.A.; SANTOS, I.G.; CAMARGO, D.B.B.; LINHARES, T.T., SILVA, R.R. Aspectos Morfofuncionais e Laboratoriais de Cryptococcus sp. Evidenciados na Criptococose. Revista de Patologia do Tocantins, v. 4, n. 4, p. 34-43, 2017.

DESTRO, M. Isolamento ambiental e caracterização bioquímica de Cryptococcus. 2016.

DOGHERO. Censo Canino: As 20 raças de cachorro mais populares do Brasil. Acesso em: 20/10/2021 <<https://love.doghero.com.br/centso/centso-canino-2016-20-racas-de-cachorro-mais-populares-brasil/>>.

DUNCAN, C. Sub-clinical infection and asymptomatic carriage of Cryptococcus gattii in dogs and cats during an outbreak of cryptococcosis. Medical Mycology, v. 43, n. 6, p. 511-516, 2005.

EVANS, S. J. M.; JONES, K.; MOORE, A. R. Atypical Morphology and Disparate Speciation in a Case of Feline Cryptococcosis. Mycopathologia, v. 183, n. 2, p. 479-484, 2018.

HERCULANO, L.F.S.; GALINDO, V.R.; CAVALCANTE NETO, T.S. Criptococose cutânea canina: relato de caso. Med. Veterinária (UFRPE), v. 14, n. 4, p. 268-276, 2020.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Geociências. Acesso em 25/10/2021 <<https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/climatologia/15817-clima.html?=&t=o-que-e>>.

LESTER, S.J; MALIK, R.; BARLETT, K.H. Cryptococcosis: update and emergence of *Cryptococcus gattii*. *Veterinary clinical pathology*, v. 40, n. 1, p. 4-17, 2011.

MARTINS, M.A.; SANTOS, D.C.S; ARAÚJO, M.R.; REGINA, S. Criptococose: Atualização e análise de dados laboratoriais sobre a frequência de *Cryptococcus gattii* no Estado de São Paulo numa série temporal de 11 anos. *Boletim Epidemiológico Paulista*, 2017; 14(157):01-10.

MCGILL, S.; MALIK, R.; SAUL, N.; BEETSON, C.; SECOMBE, C; ROBERTONS, I. IRWIN, P. Cryptococcosis in domestic animals in Western Australia: a retrospective study from 1995–2006. *Medical mycology*, v. 47, n. 6, p. 625-639, 2009.

MÜLLER, M.; NISHIZAWA, M. A criptococose e sua importância na Medicina Veterinária. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, v. 15, n. 1, p. 24-29, 2017.

NEWMAN, R.; SCHAIBLE, M. Isolation of *Cryptococcus gattii* from feline chronic stage lipid pneumonia. *Medical mycology case reports*, v. 25, p. 19-21, 2019.

PENNISI, M.G.; HARTMANN, K.; LLORET, A. Cryptococcosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, v. 15, n. 7, p. 611-618, 2013.

PEREIRA, M. F. Aspectos clínicos e anatomopatológicos da criptococose nasal com disseminação sistêmica em cão: relato de caso. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, v. 7, n. 2, p. 7-15, 2013.

RAMOS, K. Variação fenotípica e genotípica de isolados do complexo de espécies *Cryptococcus neoformans/gattii*: revisão de literatura. 2015.

SANTANA, G.S. Criptococose felina: relato de caso. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2016.

SANTOS, F.B. Estudo ambiental, caracterização molecular e estratégia de vigilância dos agentes da criptococose na microrregião do Rio Negro no estado do Amazonas. Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

SANTOS, RL ; ALESSI, AC. *Patologia Veterinária*, 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2018.

TOMMASO, V.G. de. Análise de denúncias de excesso de cães e gatos no município de São Paulo no período de 2006 a 2015. 2017. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ZACHARY, JF; MCGAVIN, MD. Bases da Patologia em Veterinária. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

## APÊNDICE A – REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

BARATA, R. S.; VIEIRA, C. M.; OLIVEIRA, R.A.C; GUEDES, J.A.; GONÇALVES, N.V. A meningite criptocócica: análise espacial, epidemiologia e fatores de risco no estado do pará, amazônia oriental brasileira. **Hygeia-Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 16, p. 74-83, 2020.

CANAVARI, I. C.; VARGAS, G.H.; TINUCCI-COSTA, M; CAMPLESI, A.C. Criptococose: revisão de literatura. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 9, p. 1-5, 2017.

CASTRO, N. B.; ROLIM, V; FERREIRO, L; DRIEMEIER, D. Doenças micóticas em gatos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa veterinária brasileira**. Vol. 37, no. 11 (Nov. 2017), p. 1313-1321, 2017.

CHIARAVALLOTI-NETO, F. O geoprocessamento e saúde pública. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v. 23, n. 4, p. 01-02, 2017.

COELHO, H. E.; MOURA, L.R.; ORPINELLI, S.R.T; KOCK, G.P.; MACHADO, F.M.R.; JÚNIOR, A.F. Cryptococcus neoformans associado à Meningite Felina em Uberaba, MG: Relato de caso. **Veterinária Notícias**, v. 15, n. 1, 2009.

Consenso em criptococose – 2008. Relatório Técnico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 41(5):524-544, set-out, 2008.

DANESI, P. et al. Molecular identity and prevalence of Cryptococcus spp. nasal carriage in asymptomatic feral cats in Italy. **Medical mycology**, 2014, 52.7: 667-673.

DE ANDRADE, I.A.; SANTOS, I.G.; CAMARGO, D.B.B.; LINHARES, T.T., SILVA, R.R. Aspectos Morfofuncionais e Laboratoriais de Cryptococcus sp. Evidenciados na Criptococose. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 4, n. 4, p. 34-43, 2017.

DESTRO, M. Isolamento ambiental e caracterização bioquímica de Cryptococcus. 2016.

DUNCAN, C. Sub-clinical infection and asymptomatic carriage of *Cryptococcus gattii* in dogs and cats during an outbreak of cryptococcosis. **Medical Mycology**, v. 43, n. 6, p. 511-516, 2005.

FIGUEIREDO, T. P. et al. Antifungal susceptibility testing and genotyping characterization of *Cryptococcus neoformans* and *gattii* isolates from HIV-infected patients of Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 58, 2016.

GALIZA, G. et al. Características histomorfológicas e histoquímicas determinantes no diagnóstico da criptococose em animais de companhia. **Pesq. Vet. Bras**, v. 34, n. 3, p. 261-269, 2014.

GIGER, U.; SMITH, J. Imunodeficiências e doenças infecciosas. **Doenças Infecciosas em Cães e Gatos**. 4ª ed. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro.[Links], p. 1145-1160, 2015.

GOMPERTZ O.F., GAMBALE W., PAULA C.R. & CORRÊA B. 2008. **Características gerais das micoses**, p.493-502. In: Trabulsi L.R. &Alterthum F. (Eds),Microbiologia. 5ª ed. Atheneu, São Paulo.

GRACIELE-MELO, C. et al. Use of Polymerase chain reaction for *Cryptococcus neoformans* genome detection in cerebrospinal fluid for neurocryptococcosis diagnosis. **Med Mycol Open Access**, v. 2, n. 2, p. 13, 2016.

GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos** . Grupo Gen-Editora Roca Ltda., 2015.

HERCULANO, L.F.S.; GALINDO, V.R.; CAVALCANTE NETO, T.S. Criptococose cutânea canina: relato de caso. **Med. Veterinária (UFRPE)**, v. 14, n. 4, p. 268-276, 2020.

IANISKI, L. B. et al. Perfil epidemiológico e terapêutico de pacientes com criptococose atendidos em hospital escola de Santa Maria/RS. **Saúde (Santa Maria)**, v. 44, n. 2, 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Geociências. Acesso em 25/10/2021

<<https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/climatologia/15817-clima.html?=&t=o-que-e>>.

KON, A. S. et al. Guidelines In Cryptococcosis-2008 [consenso Em Criptococose-2008]. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2008.

KWON-CHUNG, K.J. et al. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotype A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotype B and C). **J. Clin. Microbiol**, v. 15, p. 535-537, 1982.

KWON-CHUNG, K.J. et al. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, the etiologic agents of cryptococcosis. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 4, n. 7, p. a019760, 2014.

LESTER, S.J; MALIK, R.; BARLETT, K.H. Cryptococcosis: update and emergence of *Cryptococcus gattii*. **Veterinary clinical pathology**, v. 40, n. 1, p. 4-17, 2011.

MARTINS, M.A.; SANTOS, D.C.S; ARAÚJO, M.R.; REGINA, S. Criptococose: Atualização e análise de dados laboratoriais sobre a frequência de *Cryptococcus gattii* no Estado de São Paulo numa série temporal de 11 anos. **Boletim Epidemiológico Paulista**, 2017; 14(157):01-10.

MCGILL, S.; MALIK, R.; SAUL, N.; BEETSON, C.; SECOMBE, C; ROBERTONS, I. IRWIN, P. Cryptococcosis in domestic animals in Western Australia: a retrospective study from 1995–2006. **Medical mycology**, v. 47, n. 6, p. 625-639, 2009.

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

MOUTINHO, F. F. B. et al. Distribuição espaço-temporal das reclamações sobre pombos (*Columba livia domestica*) efetuadas ao centro de controle de zoonoses de Niterói, RJ (2009-2013). **Hygeia-Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 11, n. 21, p. 49-61, 2015.

MUKAREMERA, L.; NIELSEN, K. Adaptive immunity to *Cryptococcus neoformans* infections. **Journal of fungi**, v. 3, n. 4, p. 64, 2017.

MÜLLER, M.; NISHIZAWA, M. A criptococose e sua importância na Medicina Veterinária. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 15, n. 1, p. 24-29, 2017.

Nardi SMT, Paschoal JAA, Pedro HSP, Paschoal VDA, Sichieri EP. Geoprocessamento em Saúde Pública: fundamentos e aplicações. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, 2013; 72(3):185-91.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G **Medicina Interna de Pequenos Animais. 3rd ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil, 2010.**

PEREIRA, M. F. Aspectos clínicos e anatomopatológicos da criptococose nasal com disseminação sistêmica em cão: relato de caso. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 7, n. 2, p. 7-15, 2013.

PROEPI. Associação Brasileira de Profissionais de Epidemiologia de Campo. **Geoprocessamento em Saúde. 2ª Edição. 2018.**

RAMOS, K. Variação fenotípica e genotípica de isolados do complexo de espécies *Cryptococcus neoformans/gattii*: revisão de literatura. 2015.

RASKIN, R. E.; MEYER, D. J. **Citologia clínica de cães e gatos. 2011.**

RIBEIRO, C. L. Criptococose e pombos urbanos (*Columba livia*): uma reflexão social, ambiental e de políticas públicas. **Multitemas**, p. 205-222, 2019.

SANTANA, G.S. Criptococose felina: relato de caso. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2016.

SANTANA, G. S. Criptococose felina: relato de caso. 2016.

SANTOS, RL ; ALESSI, AC. **Patologia Veterinária, 2 ed. Rio de Janeiro: Roca, 2018.**

TRIVEDI, Sameer R. et al. Clinical features and epidemiology of cryptococcosis in cats and dogs in California: 93 cases (1988–2010). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 239, n. 3, p. 357-369, 2011.

WOZNIAK, K. L.; VYAS, J. M.; LEVITZ, S. M. In vivo role of dendritic cells in a murine model of pulmonary cryptococcosis. **Infection and immunity**, v. 74, n. 7, p. 3817-3824, 2006.

ZACHARY, JF; McGAVIN, MD. **Bases da Patologia em Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

## ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



**CAMPUS ARAÇATUBA**  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais**  
**CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals**

### CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Análise descritiva e espacial da criptococose canina e felina em amostras dos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro**", Processo FOA nº 0115-2021, sob responsabilidade de Gisele Fabrino Machado apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 29 de Abril de 2021.

**VALIDADE DESTE CERTIFICADO:** 29 de Janeiro de 2022.

**DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL:** até 01 de Março de 2022.

### CERTIFICATE

We certify that the study entitled "**Descriptive and spatial analysis of canine and feline cryptococcosis in samples from the states of São Paulo, Minas Gerais and Rio de Janeiro**", Protocol FOA nº 0115-2021, under the supervision of Gisele Fabrino Machado presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on April 29, 2021.

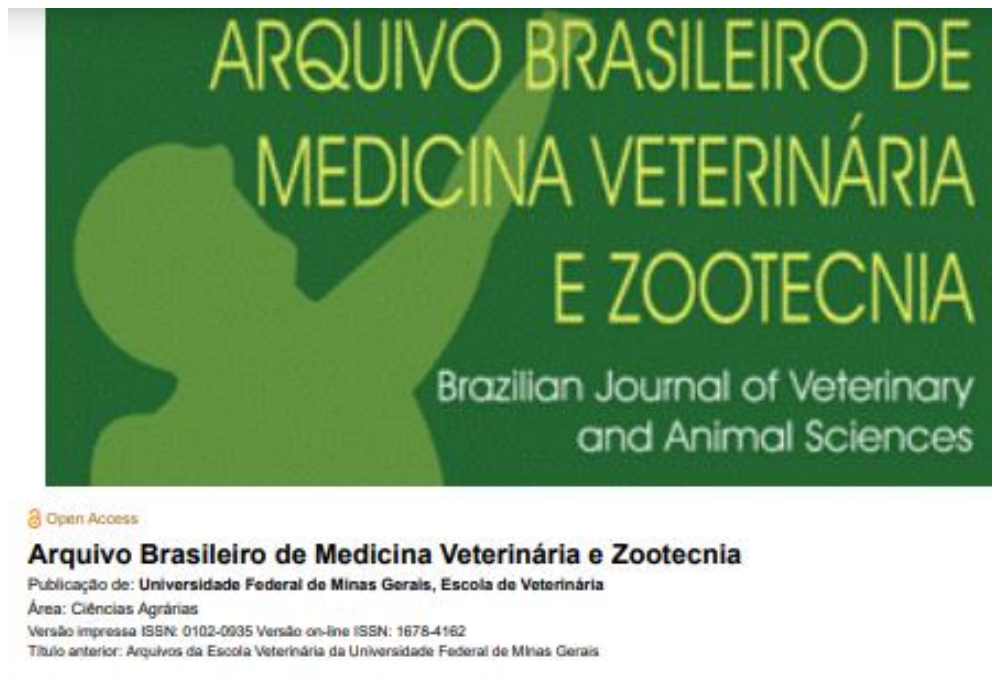
**VALIDITY OF THIS CERTIFICATE:** January 29, 2022.

**DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT:** March 01, 2022.

**Prof. Associado João Carlos Callera**  
Coordenador da CEUA  
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba  
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP  
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua.foa@unesp.br

## ANEXO B – NORMAS DE SUBMISSÃO



### Sobre o periódico

#### Informações básicas

O periódico **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de trabalhos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal e áreas afins.

Os trabalhos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os trabalhos cujos textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva à Revista.

O Corpo Editorial é formado por especialistas nas diversas áreas da medicina veterinária e zootecnia.

A abreviatura de seu título é **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, que deve ser usada em bibliografias, notas de rodapé e em referências bibliográficas.

## Indexadores

A revista é indexada por:

ISI - Institute for Scientific Information

AGRIS - Base de datos en agricultura de la FAO (Organización para la Agricultura y la Alimentación) - Food and Agriculture Organization)

CAB - Base de datos en agricultura y ciencias de la vida (produzida por CABI Publishing)

CAS - Chemical Abstract Service

MEDLINE - MEDlars on line - base de datos creada y mantenida por la Biblioteca Nacional de los Estados Unidos, National Library of Medicine - NLM)

Bibliografia Brasileira de Medicina Veterinaria y Zootecnia

LILACS - Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud

### Direitos autorais

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia reserva todos os direitos autorais do artigo publicado, inclusive a tradução.

### Reprodução dos artigos

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

## Instruções aos autores

### Política Editorial

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science)*, ISSN 1678-4162 (*on-line*), é editado pela FEPE Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os textos que necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os artigos aceitos para publicação tornam-se propriedade do *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ)*, citado como *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e pelas informações contidos nos artigos.

Originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ são imprescindíveis para publicação.

O ABMVZ aceita submissão de artigos registrados em servidores *preprints*.

## ORIENTAÇÕES GERAIS

O ABMVZ recebe submissões de artigos somente redigidos na língua inglesa.

Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de Publicação *on-line* do SciELO – ScholarOne, no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>, sendo necessário o cadastramento dos autores no referido sistema.

Toda a comunicação entre os envolvidos nos processos de avaliação e de publicação (autores, revisores e editores) será feita apenas de forma eletrônica, e o autor responsável pelo artigo será automaticamente informado, por *e-mail*, sobre qualquer mudança de *status* do artigo.

**Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridos no texto** e, quando solicitados pela equipe de editoração, também devem ser enviados, em separado, em arquivo com extensão JPG, em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido em “Figure or Image” (Step 2).

É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento da inclusão de seu nome no texto submetido e concorde com tal inserção.

O ABMVZ comunicará automaticamente a cada um dos autores inscritos, via sistema eletrônico, a participação no artigo. Caso um dos autores inscritos não concorde, por escrito, em participar como autor, o artigo será considerado como “Desistência” de um dos autores e sua tramitação será encerrada. Casos omissos serão analisados pelo editor-chefe para deliberação.

O período para adequação às normas do ABMVZ é de 30 dias; após esse prazo, o artigo será considerado como “Desistência do autor”.

O ABMVZ estimula que os autores façam, em repositório *preprints*, o depósito e o compartilhamento de dados de pesquisa que sustentam a publicação do artigo. Os dados de pesquisa referem-se a toda e qualquer observação, notas de experimentações, relatórios e outros produtos que possibilitam gerar os resultados da pesquisa. Um exemplo de repositório é o [SciELO Data](#).

O autor responsável pela submissão de um artigo necessita informar sobre o depósito em um servidor de *preprints* e, obrigatoriamente, encaminhar o DOI correspondente para o ABMVZ. O manuscrito deve informar a licença que autorize compartilhar o material em qualquer suporte ou formato (Creative Commons – CC-BY). SciELO *Preprint* e Emerging Researcher Information são exemplos de servidores nacionais, e MedRxiv de servidor internacional.

É de responsabilidade do autor de artigo aceito para publicação informar ao servidor *preprints* seu *link* da publicação do ABMVZ.

Pareceres de avaliadores poderão ser, eventualmente, publicados, se houver interesse do Conselho Editorial do ABMVZ, sempre com anuência dos autores e dos pareceristas.

## Tipos de artigos aceitos para submissão

Tipo	Seções	Sugestão de número de referências	Sugestão de número de autores	Sugestão de número de páginas
<b>Artigo científico/ Original Article</b> É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.	<b>Title</b> (português e inglês), <b>Authors and Affiliation</b> (somente na "Title Page"), <b>Resumo, Abstract, Highlights (optional), Introduction, Material and Methods, Results, Discussion</b> (ou <b>Results and Discussion</b> ), <b>Conclusions, Acknowledgements</b> (quando houver) e <b>References</b> .	É recomendado que o número de referências não exceda a 20.	É recomendado que o número de autores não exceda a 10.	É recomendado que o número de páginas não exceda a 30, incluindo tabelas e figuras.

## DETALHAMENTO DE CADA SEÇÃO

**Title.** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 50 palavras.

**Authors and Affiliation (Apenas na Title Page).** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com o número do ORCID (de todos os autores) e com identificação da instituição à qual pertencem. O autor e o seu *e-mail* para correspondência devem ser indicados com asterisco.

**Highlights (optional).** Recomenda-se que o autor faça uma breve síntese dos pontos principais de seu trabalho, em no máximo cinco linhas.

**Abstract (in English and Portuguese).** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro, contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os objetivos, os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso, e as conclusões. Cada frase deve conter uma informação completa.

**Keywords (in English and Portuguese).** Deve conter, no máximo, cinco e no mínimo duas. Na submissão, usar somente *Keywords* (Step 3) e, no corpo do artigo, constar tanto *keywords* (inglês) quanto palavra-chave (português).

**Introduction.** Explicação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho, realçando-se com clareza a originalidade ou o

ineditismo. Deve conter poucas referências, o suficiente para balizá-la.

**Material and Methods.** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados, **deverá constar, obrigatoriamente, o número do Certificado de Aprovação da CEUA** (verificar o Item Comitê de Ética). Nos trabalhos que envolvem seres humanos, **deverá constar, obrigatoriamente, o número do Certificado de Aprovação da Comissão de Ética** que analisou o projeto.

**Casuistry.** Descrever detalhadamente o conjunto de achados que constitui e justifica a originalidade da casuística.

**Results.** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

*Tabela.* Tabelas só serão aceitas se apresentadas em formato de retrato/*portrait*, em um conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto, a tabela deve ser referida como Tab., seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando se referir a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e em fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda de tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento, mas deve ser completa o suficiente para ser entendida independentemente do texto principal. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto, de preferência após a sua primeira citação.

*Figura.* Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig., seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridos no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto, de preferência após a sua primeira citação.

**Nota:**

Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data), e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

**Discussion.** Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer uma das partes).

**Conclusions.** As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e ser apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

**Acknowledgements.** Não são obrigatórios. Devem ser concisamente expressados.

**References.** As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ, conforme exemplos a seguir.

## COMISSÃO DE ÉTICA

É indispensável anexar cópia, em arquivo PDF, do Certificado de Aprovação do Projeto da Pesquisa que originou o artigo, expedido pela Comissão de Ética da instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. O documento deve ser anexado em “Ethics Committee” (Step 2). O número do Certificado de Aprovação do Projeto deve ser mencionado no corpo do artigo e, preferencialmente, na seção Material e Métodos. Nos trabalhos que envolvem seres humanos, **deverá constar, obrigatoriamente, o número do Certificado de Aprovação da Comissão de Ética** que analisou o projeto.

## FORMATAÇÃO - Preparação dos textos para publicação

**Os artigos devem ser redigidos em inglês na forma impessoal.**

O texto **NÃO** deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo e deve ser apresentado em arquivo *Microsoft Word* e anexado como “Main Document” (Step 2), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte *Times New Roman* tamanho 12, parágrafo justificado e com espaçamento 1 entrelinhas, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências).

Não deve ser usado rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parênteses, no corpo do texto, na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

## COMO REFERENCIAR

### 1. Citações no texto

A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação, para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88);

dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974);

mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979);

mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

*Citação de citação.* Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais, pode-se reproduzir a informação citada anteriormente por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por**, o sobrenome do autor e o ano do documento consultado. Nas Referências, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

*Comunicação pessoal.* Não faz parte das Referências. Na citação, coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação e o nome da instituição à qual o autor é vinculado.

1. **Periódicos** (Até quatro autores, citar todos. Acima de quatro autores, citar três autores *et al.*):
 

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. *et al.* Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.
1. **Publicação avulsa** (Até quatro autores, citar todos. Acima de quatro autores, citar três autores *et al.*):
 

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte.* 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
1. **Documentos eletrônicos** (Até quatro autores, citar todos. Acima de quatro autores, citar três autores *et al.*):
 

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995.

Disponível em: <http://www.org/critca16.htm>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>. Acessado em: 5 dez. 1994.

1. **Documentos *preprints***

OLIVEIRA, D.C; AGUIAR, A.F. (2021). Aspectos biológicos. PsyArXiv. <https://psyarxivcom/kzy7u/>.