



DANIELLA CORREA ABDALLA

**DOENÇAS PARASITÁRIAS E FÚNGICAS
NEUROTRÓPICAS DIAGNOSTICADAS EM ANIMAIS
DE COMPANHIA COM IMPORTÂNCIA EM SAÚDE
ÚNICA**

LAVRAS - MG

2023

DANIELLA CORREA ABDALLA

**DOENÇAS PARASITÁRIAS E FÚNGICAS NEUROTRÓPICAS
DIAGNOSTICADAS EM ANIMAIS DE COMPANHIA COM
IMPORTÂNCIA EM SAÚDE ÚNICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, com parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. área de concentração em Patologia Veterinária para obtenção de título de Mestre.

Dra. Mary Suzan Varaschin
Orientadora

LAVRAS - MG

2023

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Abdalla, Daniella Correa.

Doenças parasitárias e fúngicas neurotrópicas diagnosticadas
em animais de companhia com importância em saúde única /
Daniella Correa Abdalla. - 2023.

64 p. :il.

Orientador(a): Mary Suzan Varaschin.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2023.

Bibliografia.

1. Patologia Veterinária. 2. Doenças Fungicas neurotrópicas. 3.
Doenças parasitárias neurotrópicas. I. Varaschin, Mary Suzan. II.
Título.

DANIELLA CORREA ABDALLA

**DOENÇAS PARASITÁRIAS E FÚNGICAS NEUOTRÓPICAS DIAGNOSTICADAS
EM ANIMAIS DE COMPANHIA COM IMPORTÂNCIA EM SAÚDE ÚNICA**

**NEUOTROPIC PARASITIC AND FUNGAL DISEASES DIAGNOSED IN PETS
WITH IMPORTANCE IN ONE HEALTH**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, com parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. área de concentração em Patologia Veterinária para obtenção de título de Mestre.

APROVADA em 26 de junho de 2023

Dr. Pedro Soares Bezerra Júnior - UFPA

Dr. Flademir Wouters - UFLA

**Dra. Mary Suzan Varaschin
Orientadora**

LAVRAS-MG

2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Denise e Rogério, que nunca mediram esforços para proporcionar condições de tornar todos os meus sonhos possíveis, pelo amor e incentivo em buscar sempre aspirações intelectuais, sem deixar de passar valores necessários para viver a vida com dignidade. Agradeço ao Pedro pelo amor incondicional, pelo apoio, pela paciência, pelo cuidado e carinho.

À minha orientadora Mary Suzan Varaschin, pela orientação, pelos conselhos, repreensões e pela amizade construída ao longo desses anos de academia. Agradecimentos esses, que se estendem aos demais professores do Setor de Patologia Veterinária, aos professores Flademir Wouters e Djeison Lutier Raymundo, e à professora Angélica T. Barth Wouters que foram verdadeiros mestres nesse trajeto, dando exemplos que serão lembrados em todas as áreas da minha vida.

Agradeço aos meus colegas de pós-graduação e aos estagiários do Setor de Patologia Veterinária, pelo trabalho realizado e pela amizade. Ao Sr. Francisco, pelo zelo e dedicação que sempre teve com o setor, e aos muitos outros que trabalham em áreas diversas para que se possa realizar o trabalho acadêmico.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado, e à FAPEMIG, pela ajuda financeira (Processo APQ – 01699-22).

RESUMO

Doenças parasitárias e fúngicas neurotrópicas que apresentam importância em Saúde Única, com poucas exceções, são raras ou pouco diagnosticadas em animais. Este estudo tem por objetivo determinar a casuística e os aspectos patológicos das doenças parasitárias e fúngicas neurotrópicas de animais de companhia diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária (SPV) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As amostras utilizadas neste estudo são provenientes de um estudo de 17 anos (2005-2022) de casos diagnosticados na rotina de diagnóstico em Patologia Veterinária. Além da casuística foram levantados dados sobre espécie afetada, sexo, idade, manifestações clínicas, comorbidades e localização das lesões. O diagnóstico foi baseado nas lesões macroscópicas e microscópicas, na utilização de técnicas histoquímicas, imuno-histoquímicas e de microscopia eletrônica, além de dissecação e avaliação morfológica do parasito, quando possível. No período foram necropsiados 2.626 cães, 539 gatos 8 gerbis e 10 porquinhos da Índia, sendo acometidos 35 animais (1,10%) por essas enfermidades, com diagnóstico de neurocisticercose (0,031%) em um cão, 18 casos (16 em caninos e dois felinos) de toxoplasmose (0,56%), 13 casos (dois gerbis, um porquinho da Índia, quatro gatos e seis cães) de criptococose (0,41%) e dois casos de feo-hifomicose (0,06%) em caninos. Como diagnóstico diferencial e de menor importância em saúde única foi diagnosticado um caso de protozoário semelhante ao *N. caninum* em cão (0,031%). Os resultados demonstraram a toxoplasmose como a infecção parasitária e a criptococose como a infecção fúngica mais frequentes do SNC de animais de companhia, sendo o cão a espécie mais acometida. Além da ocorrência, apesar de rara, de doença negligenciada como a neurocisticercose, reforçando a importância do diagnóstico e da vigilância constante destas enfermidades, uma vez que humanos e animais compartilham do mesmo ambiente.

Palavras-Chave: Doenças parasitárias do SNC. Patologia do Sistema Nervoso. *Cysticercus cellulosae*. Meningoencefalite granulomatosa

ABSTRACT

Neurotropic parasitic and fungal diseases that are important in One Health, with few exceptions, are rare or underdiagnosed in animals. This study aims to determine the casuistry and pathological aspects of neurotropic parasitic and fungal diseases of companion animals diagnosed in the Veterinary Pathology Sector (SPV) of the Federal University of Lavras (UFLA). The samples used in this study come from a 17-year study (2005-2022) of cases diagnosed in routine diagnostics in Veterinary Pathology. In addition to the casuistry, data on the affected species, sex, age, clinical manifestations, comorbidities, and location of the lesions were described. The diagnosis was based on macroscopic and microscopic lesions, the use of histochemical, immunohistochemical and electronic microscopy techniques, in addition to dissection and morphological evaluation of the parasite, when possible. During the period, 2,626 dogs, 539 cats, 8 gerbils and 10 guinea pig were necropsied, with 35 animals (1.10%) affected by these diseases, with a diagnosis of neurocysticercosis (0.031%) in one dog, 18 cases (16 in canines and two feline) of toxoplasmosis (0.56%), 13 cases (two gerbils, one guinea pig, four cats and six dogs) of cryptococcosis (0.41%) and two cases of phaeohyphomycosis (0.06%) in canines. As a differential diagnosis and of minor importance in single health, a case of neosporosis-like was diagnosed in one dog (0.031%). The results showed toxoplasmosis as the most frequent parasitic infection and cryptococcosis as the fungal infection of the CNS in companion animals, with dogs being the most affected species. In addition, the occurrence, although rare, of a neglected disease such as neurocysticercosis, reinforcing the importance of diagnosis and constant surveillance of these diseases, since humans and animals share the same environment.

Keywords: CNS parasitic diseases. Nervous System Pathology. *Cysticercus cellulosae*. Granulomatous meningoencephalitis

LISTA DE FIGURAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

Artigo 1 – Neurocisticercose em um cão

Figura 1. Neurocisticercose em um canino. A: Cisto parasitário (cisticerco) em lobo parietal direito do cérebro; B: Aspecto microscópico do cisticerco, evidenciando o protoescólex do parasito, H.E.obj.40x.....40

Figura 2. *Cysticercus cellulosae*. A: Protoescólex com quatro ventosas (V) e coroa de ganchos (G) (Obj.40x), em microscópio estereoscópico. B: Dupla coroa de ganchos rostellares curvos. Microscopica eletrônica de varredura. Barra 20 µm.....40

Artigo 2 – Aspectos patológicos de parasitos da família Sarcocystidae diagnosticados em Minas Gerais

Figura 1 A e B. Toxoplasmose Cerebral. Canino 11. Área focal do encéfalo com cistos de *Toxoplasma gondii*, H.E., Barra 50 µm e 20 µm.....51

Figura 2. Canino 11. A. Encefalite multifocal acentuada com gliose e cistos de *T. gondii* no parênquima cerebral marcados pela IHQ, Barra 50 µm. B. Canino 16. Gliose focal e IHQ positiva anti-*T. gondii*, Barra 20 µm.....51

Figura 3. *Neospora caninum*-like em cão. SNC: (A) Leptomeninges e (B) parênquima dos hemisférios cerebrais com acentuado infiltrado inflamatório granulomatoso predominantemente perivascular, H.E. Barra 100 µm e 50 µm.....51

Figura 4. *Neospora caninum*-like em cão. A. Cortex cerebral. Infiltrado granulomatoso com estruturas parasitárias dentro de células multinucleadas nas leptomeninges. H.E., Barra 10 µm. B. Cistos no parênquima, H.E., Barra 20 µm.....52

Figura 5 *Neospora caninum*-like em cão. Estruturas parasitárias marcadas pela IHQ para *N. caninum* no citoplasma de neurônios, Barra 20 µm (A) e em macrófagos perivasculares, Barra 50µm.....52

Artigo 3 – Doenças fúngicas neurotrópicas em animais de companhia

Figura 1. Criptococose em animais de companhia (A) Gato. Cérebro com área amolecida e enegrecida bilateralmente acima dos colículos rostrais e região de córtex unilateral. (B) Gato. Estruturas leveduriformes no parênquima cerebral dando aspecto de bolha de sabão ao tecido, H.E., Barra 50µm. (C) *Cryptococcus* com núcleo evidenciado pela coloração Ácido Periódico de Schiff, Barra 50µm e (D) com capsula marcada pela coloração Mucicarmim, Barra 100 µm.....62

Figura 2. Feo-hifomicose em cão. Encéfalo com lesão, deprimida, cinza amarelada e assimétrica em região de córtex cerebral.....63

Figura 3. Feo-hifomicose em cão. Encéfalo. (A) Hifas fúngicas de coloração acastanhada em meio a infiltrado piogranulomatoso, H.E., Barra 50µm. (B) Hifas fúngicas evidenciadas pela coloração de Metenamina de Prata de Grocott, Barra 50µm.....63

LISTA DE TABELAS

Referencial teórico

Tabela 1– Feo-hifomicoses em gatos.....	21
Tabela 2 – Feo-hifomicoses em cães.....	21

LISTA DE QUADROS

SEGUNDA PARTE

Artigo 2

Quadro 1. Toxoplasmose em felinos, resenha do animal, comorbidades e sinais clínicos	45
Quadro 2. Toxoplasmose e neosporose (*) em cães, resenha do animal, comorbidade e sinais clínicos.	46

Artigo 3

Quadro 1. Criptococose em animais de companhia. Resenha e sinais clínicos	57
Quadro 2. Feo-hifomicose em caninos. Resenha e sinais clínicos.....	59

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1 Neurocisticercose.....	13
2.2 Criptococose.....	18
2.3 Feo-hifomicose.....	20
2.4 Toxoplasmose.....	22
2.5 Neosporose.....	25
2.6 Sarcocistose.....	28
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
4. REFERÊNCIAS.....	30

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

1. ARTIGO 1 – Neurocisticercose em um cão.....	34
2. ARTIGO 2 – Aspectos patológicos de parasitos da família Sarcocystidae diagnosticados em Minas Gerais.....	41
..	
3. ARTIGO 3 – Doenças fúngicas neurotrópicas em animais de companhia.....	53

1. INTRODUÇÃO

As doenças parasitárias e fúngicas do sistema nervoso central (SNC) que apresentam importância na Saúde Única, com poucas exceções, são raras ou pouco diagnosticadas em animais. Este estudo tem por objetivo determinar a casuística e descrever os aspectos patológicos das doenças parasitárias e fúngicas do sistema nervoso central de animais de companhia, diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária (SPV) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), sendo estas, a neurocisticercose, a criptococose, a feo-hifomicose, a toxoplasmose e como diagnóstico diferencial a neosporose.

A neurocisticercose (NCC) é uma doença causada pela forma larval encistada da *Taenia solium* (*Cysticercus cellulosae*). É considerada a parasitose mais comum que afeta o SNC de humanos e um grave problema de saúde pública negligenciado em alguns países com condições sanitárias inadequadas (Grazziotin et al. 2010). Casos de cisticercose cerebral têm sido reportados em humanos e animais, incluindo cães (Suja et al. 2003) e gatos (Schwan et al. 2002, Wünschmann et al. 2003). A identificação da espécie do cisticercose pode ser feita por critérios morfológicos (Wünschmann et al. 2003) e por provas moleculares (Tape et al., 2015). À dissecação, o *Cysticercus cellulosae* apresenta-se como uma vesícula semitranslúcida, com apenas um protoescólex invaginado em seu interior, contendo rostelo com ganchos dispostos em duas fileiras (dupla coroa) e quatro ventosas (Schwan et al. 2002).

A criptococose é uma micose de humanos e animais causada pelo fungo *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. É uma afecção multissistêmica de caráter oportunista e de ocorrência mundial, sendo os felinos e caninos as espécies mais acometidas pela doença (Barbry, 2019). A infecção ocorre por inalação do fungo presente em poeiras, principalmente em ambientes contendo fezes secas de pombos (*C. neoformans*) e associado à várias espécies arbóreas com matéria em decomposição (*C. gattii*). Microscopicamente ocorre leptomeningite granulomatosa associada a estruturas fúngicas leveduriformes, com corpo arredondado basofílico, parede espessa, não corada por eosina e hematoxilina (HE), lembrando o aspecto de “bolha de sabão”. O diagnóstico pode ser realizado pelas lesões histológicas, histoquímica, cultura do fungo e de testes moleculares (Headley, et al.2019).

A feo-hifomicose é uma infecção micótica oportunista, que acomete animais domésticos e humanos. É causada por fungos filamentosos, que contêm melanina (dematiáceos) em sua parede celular. Uma grande variedade de fungos, foram identificados como causadores da feo-hifomicose em cães, como *Scopulariopsis chartarum*, *Cladophialophora bantiana*, *Ochroconis gallopavum*, *Exophiala* sp, *Cladosporium*

cladosporioides entre outros. O diagnóstico do agente envolvido pode ser realizado por cultura, colorações histoquímicas ou provas moleculares (Uchôa, 2012, Dominiciano et al., 2014).

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, com grande importância na medicina veterinária e saúde pública (Safadi, 2000). Os animais podem ser a fonte direta ou indireta da infecção ao homem, podendo levar a encefalite e óbitos, devido a sua forma congênita em neonatos ou associado com doenças imunossupressoras. O homem e os animais, hospedeiros intermediários, podem adquirir a doença pelo consumo de alimentos, como carne crua ou malcozida com cistos teciduais e água contaminada com oocistos de *Toxoplasma gondii* (Safadi, 2000). O diagnóstico pode ser realizado pelas lesões microscópicas associadas a marcação imuno-histoquímica ou provas moleculares (Nakagaki et al., 2016).

A neosporose é uma doença parasitária causada pelo protozoário do filo Apicomplexa *Neospora caninum*, parasito intracelular obrigatório e formador de cistos (Dubey et al., 2003). No Brasil, a neosporose em cães é pouco investigada e a maioria dos estudos se restringe à soroprevalência, sendo escasso o diagnóstico clinicopatológico. O diagnóstico pode ser realizado pelas lesões microscópicas, caracterizadas por de infiltrado inflamatório mononuclear em musculatura esquelética e miocárdio e no encéfalo gliose, manguitos perivasculares e necrose tecidual (Dubey; Lindsay, 1996), associados a marcação imuno-histoquímica do parasito e/ou as provas moleculares (Nakagaki et al., 2016, Mesquita et al., 2018). Em humanos a neosporose não é considerada importante, apesar de baixos níveis de anticorpos anti *N. caninum* terem sido detectado no soro humano, além deste ter crescido em cultura de várias linhagens de células humanas, entre elas BeWo de trofoblasto e células HeLa do cérvix uterino (Dubey et al., 2006). Deve ser considerado no diagnóstico diferencial outros protozoários entre eles o *Sarcocystis* sp.

Desta forma, este estudo contribuirá com o conhecimento da casuística das doenças parasitárias e fúngicas do SNC em animais de companhia, reforçando a importância do diagnóstico e da vigilância constante destas enfermidades, uma vez que humanos e animais compartilham do mesmo ambiente.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Neurocisticercose

As cisticercoses de maior interesse em saúde pública e animal são as formas larvares de duas teníases humanas, o *Cysticercus cellulosae* da *Taenia solium*, com ocorrência mais frequente em suínos, e o *Cysticercus bovis*, da *Taenia saginata*, ocorrendo mais frequentemente em bovinos (Domingo, 2000). A NCC é uma doença parasitária comum do SNC de humanos (Del Brutto, 2012), causada pela forma larval da *Taenia solium* (Fogang et al., 2015). Casos de NCC têm sido reportados em diversas espécies animais, incluindo cães (Suja et al. 2003) e gatos (Schwan et al. 2002). No entanto, a infecção cerebral por metacestódeos em animais de companhia pode ser considerada rara (Wünschmann et al. 2003).

O ciclo de vida da *T. solium* é complexo, tendo os humanos como hospedeiros definitivos (HD) e humanos e porcos como hospedeiros intermediários (HI) (Coral-Almeida, 2015), porém os cães também têm sido implicados como hospedeiros intermediários da teníase (Ito, 2002). Em humanos, a cisticercose pode ocorrer de forma indireta ou heteroinfecção, pela ingestão acidental de ovos da *T. solium* nos alimentos ou água contaminados, ou por infecção direta ou autoinfecção, decorrente da ingestão de ovos de tênias do próprio indivíduo. Já nos HI a infecção ocorre pela ingestão de fezes humanas contendo ovos que contaminam o ambiente (Menezes, 2010).

No trato intestinal dos hospedeiros, os ovos perdem seu revestimento liberando as larvas fechadas, conhecidas como oncosferas. Estas penetram na parede intestinal e são transportadas na corrente sanguínea para vários tecidos do corpo, incluindo o cérebro, olhos, pele e músculos (Del Brutto, 2012). Dentro desses tecidos as oncosferas se diferenciam e se desenvolvem em metacestódeos, que passam por múltiplos estágios de desenvolvimento. O primeiro estágio é conhecido como "estágio viável ou vesicular" em que uma membrana se desenvolve ao redor de cada oncosfera, formando uma vesícula que contém fluido claro ao redor da cabeça do parasito, ou escólex. Dependendo do ambiente circundante e da natureza da resposta imune que sua presença provoca, os cistos podem permanecer neste estágio por meses ou mesmo anos, antes de começarem a se degenerar. O "estágio coloidal" marca essa transição, em que o escólex mostra sinais de deterioração e o líquido vesicular começa a aparecer turvo. Em seguida, o líquido vesicular torna-se gradualmente mais opaco e o cisto

começa a calcificar terminando sua evolução como nódulo calcificado inviável (Coral-Almeida, 2015)

O ciclo de vida se completa quando os humanos ingerem alimentos malcozidos como carne suína contendo cisticercos viáveis. Enzimas digestivas no intestino delgado fazem com que os escólices da larva se envaginem da vesícula do cisto, aderindo-se à parede do intestino por meio de suas ventosas e acúleos. Nessas regiões a *Taenia* atinge a idade adulta, até que seções pontuais do seu corpo contendo ovos, chamadas de 'proglotes grávidas', são liberados nas fezes do HD (Del Brutto, 2012)

Os sinais clínicos associados com a NCC estão correlacionados com a carga parasitária (tanto do tamanho quanto do número de cisticercos) e com a localização do cisticerco. Uma alta carga parasitária pode aumentar o risco de obstrução do fluxo do líquido cefalorraquidiano (LCR), aumentar a pressão intracraniana (PIC), a intensidade da resposta inflamatória (Singhi, 2009, Kimura-Hayama et al., 2010), levando ao edema cerebral difuso (Kimura-Hayama et al., 2010). O estágio de desenvolvimento do cisticerco é importante para a eficácia da resposta imune. Acredita-se que os cistos viáveis iniciam uma resposta de evasão imune complexa, permitindo que eles não sejam detectados no corpo; isso pode persistir por um período prolongado, com os sinais clínicos sendo retardados por vários anos (Kimura-Hayama et al., 2010).

Clinicamente os caninos com NCC podem apresentar náusea, sialorreia, êmese, convulsão, nistagmo, anisocoria, irresponsividade pupilar, cegueira, ataxia, dificuldade de se manter em estação, rigidez de membros torácicos, hiperreflexia dos membros pélvicos (Schwan et al. 2002) ou sinais de agressividade, semelhantes aos da raiva (Suja et al. 2003). Cistos meningeais incitam uma intensa resposta inflamatória e podem levar a uma oclusão do lúmen de vasos com o desenvolvimento de infartos cerebrais e hidrocefalia por obstrução da passagem do LCR (Del Brutto 2012). Cistos ventriculares podem bloquear o aqueduto mesencefálico e levar a hidrocefalia intermitente, dor de cabeça acentuada e vômito (Schwan et al. 2002). Os cistos mortos provocam uma inflamação aguda com agressão ao tecido cerebral (Del Brutto 2012).

Para o diagnóstico da neurocisticercose pode-se fazer uso de várias técnicas, entre elas a avaliação macro e microscópica das lesões. A necropsia pode revelar herniação do cerebelo através do forame magno, indicando aumento da pressão intracraniana. Múltiplos cistos esféricos com parede fina, semitransparente, contendo líquido com um único escólex invaginado podem ser vistos em todos os hemisférios cerebrais (Schwan et al. 2002). Ao exame histopatológico observa-se exsudato eosinofílico moderado circundando o cisto ativo

(Basso, 2010), porém a inflamação pode estar ausente ou se apresentar como um exsudato granulomatoso acentuado, sendo este uma importante causa da epilepsia e outros sinais neurológicos. Também foi reportado que os cisticercos necrosados ou calcificados desencadeiam uma resposta inflamatória mais exacerbada do que os cistos viáveis, já que estes podem não ser reconhecidos pelo sistema imunológico por um longo período (Wünschmann et al., 2003).

Sendo assim, as lesões cestoides são semelhantes macroscopicamente, requerendo o diagnóstico diferencial e a identificação microscópica da espécie do cisticerco (Fortes, 2004, Wünschmann et al. 2003), que pode ser feita por critérios morfológicos (tamanho e morfologia dos cistos; formato, número e tamanho dos ganchos rostelares) (Wünschmann et al. 2003) onde o *C. cellulosae* possui quatro ventosas e apresenta uma coroa dupla de ganchos (Fortes, 2004).

A *T. solium* é ligeiramente menor que a *T. saginata*. Tem um escólex globular com quatro ventosas e uma fileira circular de acúleos (rostelo) que dá uma aparência solar (coroa dupla de ganchos) (Fortes, 2004). Apresenta colo e um corpo longo e achatado (0.1 m de comprimento). Os proglotes medem 5 x 10 mm com um útero de 7-12 ramos (Fortes, 2004). Os ovos são arredondados ou esféricos, diâmetro de 31 a 43 µm, com uma concha larga radialmente estriada e marrom. No interior de cada concha está uma oncosfera embrionada com 6 ganchos (Fortes, 2004).

A *T. saginata* pode ter o comprimento de 4 a 6 metros e 12 mm de espessura; tem uma cabeça piriforme (escólex) com quatro ventosas, mas não há ganchos ou colo. O corpo é longo e achatado com algumas centenas de segmentos (proglotes). Cada segmento mede cerca de 18 x 6 mm com um útero ramificado (15-30 ramos). O ovo arredondado mede 35 x 45 µm, de coloração amarelo amarronzado, com estriações periféricas radiais, contendo internamente um embrião com três acúleos (Fortes, 2004).

Em pacientes vivos, outros métodos de diagnóstico são indicados para o diagnóstico da NCC, sendo que relataremos neste estudo somente os que poderiam ser aplicados aos animais domésticos.

Na tomografia computadorizada (TC) é possível visualizar cisticercos infectantes e avaliar sua quantidade, localização dentro do SNC e o estágio de desenvolvimento. Os cistos viáveis aparecem como áreas pequenas e redondas que são facilmente distinguidas do parênquima cerebral, com o protoescólex aparecendo como um nódulo de alta densidade dentro do cisto; cistos já degenerados são menos definidos e tendem a ser envoltos por uma área de edema perilesional (Del Bruto, 2012).

A ressonância magnética (RM) apresenta uma maior qualidade de resolução permitindo a distinção do estágio degenerativo dos cisticercos, e a detecção de parasitos localizados em locais que não seriam detectados por uma tomografia computadorizada, assim como, aqueles localizados na fossa posterior, cisternas basais e ventrículos (Takayanagui, 2006). Porém, ocorre uma menor sensibilidade, especialmente para cistos localizados nas regiões intraventriculares e subaracnoide, onde o fluido do cisto e o LCR têm densidades semelhantes, tornando a visualização do cisto improvável, mesmo em RM com contraste (Singhi, 2009).

Em humanos testes sorológicos são descritos para o diagnóstico da NCC. O Ensaio de imunoelectrotransferência ligada à enzima (EITB) de glicoproteína purificada por lectina de lentilha (LLGP), que usa antígenos direcionados para detectar anticorpos anti-*T. solium* no soro do paciente, fornecendo resultados mais consistentes (Fogang et al., 2015). Este teste diagnóstico tem uma especificidade de 100% e uma sensibilidade de 98% (Del Brutto, 2005). Essas taxas diminuem significativamente nos casos em que apenas um único cisticercos está presente, uma vez que a baixa carga parasitária provoca uma resposta de anticorpos muito baixa, deixando a sensibilidade menor que 50% (Fogang et al., 2015; Ito, 2015). Além disso, a presença de anticorpos no soro não informa a localização de um cisto, ou seja, testar positivo para infecção por cisticercos não é sinônimo de envolvimento do SNC (Fogang et al., 2015).

A NCC também pode ser detectada no LCR (Del Brutto, 2005), onde em um estudo comparativo de Sako et al. (2015) não houve diferença na sensibilidade e especificidade entre as amostras de soro e LCR. Outros testes também podem ser utilizados, como ELISA (Gabriel et al., 2012), fluxo lateral (LFA-Lateral Flow Assay), o qual consiste no uso de anticorpo monoclonal HP10, que quando aplicado a amostras de LCR suspeitas identificaram corretamente 34 casos de NCC extra-parenquimatosa ativas e foi negativo para 26 amostras derivadas de pacientes com NCC curados (Fleury et al., 2016).

Na PCR são utilizados primers que amplificam fragmentos específicos da do gene LSU rRNA de *T. saginata* e *T. solium* (Tabela 1). Os pares de primers TBR-3/TBR-4 foram empregados na amplificação do DNA de *T. saginata*, e os pares TBR-3/TBR-5 e TBR-3/TBR6, empregados na amplificação do DNA de *T. solium*, os quais apresentaram 100% de especificidade na amplificação de fragmentos esperados do gene do LSU rRNA, de 328pb, 310pb e 286pb, respectivamente (Jardim, 2006).

Protocolos de tratamento para a NCC são descritos em humanos. O uso de drogas cisticidas pode representar mais risco para o paciente do que benefício, devido principalmente

à intensa resposta inflamatória que pode ser estimulada em decorrência da morte em massa de cistos dentro do SNC (Singhi, 2009). Por esta razão, o uso destas drogas é contraindicado em casos que tenham risco preexistente de desenvolver hidrocefalia (Fogang et al., 2015). As duas drogas cisticidas mais utilizadas são o albendazol, um imidazol que prejudica a captação e o metabolismo da glicose no parasita, e praziquantel, uma isoquinolona que causa paralisia no parasita por alterar as vias de cálcio e homeostase (Bobes, 2014). Esses medicamentos só são aplicáveis no tratamento de cistos viáveis (Baird et al., 2013). Albendazol é considerado o fármaco de escolha, com eficácia e efeito antiparasitário superiores ao praziquantel, além de melhor penetração no LCR, tem uma menor interação com outros medicamentos administrados como corticosteróides (Fogang et al., 2015).

Nos pacientes que apresentam convulsões e múltiplos cistos viáveis, a terapia farmacológica antiepiléptica pode ser indicada (Takayanagui, 2006); drogas como fenobarbital e carbamazepina são eficazes no controle (Del Brutto, 2012). Também são utilizados esteróides para controlar a resposta inflamatória como prednisolona ou dexametasona (Singhi, 2009).

Em casos de NCC com risco substancial ao paciente, ocasionados por complicações secundárias ao tratamento pode ser realizada a retirada cirúrgica do cisto (Bansal, 2014), principalmente em casos de hidrocefalia, com a necessidade de drenagem do LCR acumulado (Basso et al., 2010).

O controle e prevenção da transmissão da *T. solium* deve ser uma prioridade na saúde global, pois a intervenção pode reduzir os encargos substanciais de saúde e econômicos infligidos tanto pelo NCC quanto pela teníase. Uma série de soluções simples podem ser facilmente implementadas se recursos financeiros fossem disponibilizados para países endêmicos, como saneamento básico, maior educação e conscientização nas comunidades sobre a doença e confinamento dos suínos para evitar seu contato com dejetos humanos (Schantz et al., 1993). Finalmente, é necessária uma vigilância melhorada, incluindo a implementação da notificação obrigatória de casos de NCC, pois a ausência de estimativas confiáveis de sua ocorrência global, a NCC permanecerá, juntamente com outras doenças endêmicas, sendo uma zoonose de baixa prioridade aos olhos das agências de fomento, ou seja, uma doença verdadeiramente negligenciada (Okello et al., 2015). A necessidade de uma vigilância constante pode ser exemplificada pelo relato recente da ocorrência do complexo teníase-cisticercose nos assentamentos rurais da reforma agrária no estado de Minas Gerais (Acevedo-Nieto et al., 2022).

2.2. Criptococose

A criptococose é uma infecção fúngica sistêmica de importância global que ocorre mais comumente no gato, mas também pode acometer o homem e várias espécies animais entre elas caninos, equinos e bovinos (Taboada, 2010). Esta tem como agente etiológico o *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, duas espécies de leveduras saprófitas e de reprodução por brotamento. O microrganismo é pequeno, medindo de 1 a 7µm de diâmetro e geralmente encontra-se circundado por uma cápsula mucoide, composta por polissacarídeos, e com dimensões variáveis de 1 a 30 µm de diâmetro (Taboada, 2010).

São reconhecidos cinco sorotipos de *Cryptococcus* com base nos antígenos capsulares. Os sorotipos A e D são designados para *C. neoformans*, enquanto sorotipos B e C têm sido designados para *C. gattii* (Quinn et al., 2005). Alguns isolados possuem características de ambos os sorotipos A e D, e têm sido classificados como um quinto sorotipo, o híbrido AD (Sorrell, 2001). Essas duas espécies apresentam diferenças com relação ao habitat natural, à epidemiologia, às características fenotípicas, às manifestações clínicas e à resposta a terapia antifúngica (Barbry, 2019), porém podem ter seu crescimento inibido em temperatura acima de 37°C (Sherding, 2004).

O *C. neoformans* apresenta distribuição cosmopolita, sendo frequentemente isolada em excretas de aves, principalmente de pombos urbanos, que por serem ricas em nitrogênio derivado da creatinina, favorecem a sua proliferação (Taboada, 2010), sendo o *C. neoformans* considerado mais patogênico em indivíduos imunocomprometidos (Pappalardo, 2003).

O *C. gattii* é encontrado principalmente em climas tropicais e pode afetar hospedeiros imunossuprimidos e indivíduos imunocompetentes (Pappalardo, 2003). A criptococose não é considerada uma doença zoonótica, tendo em vista que os *Cryptococcus* spp. não podem se disseminar no ambiente a partir de lesões no tecido, no entanto, casos descritos em humanos e em animais podem resultar de uma fonte ambiental em comum (Galiza, 2014).

Muitos fatores de virulência são descritos para os fungos pertencentes ao gênero *Cryptococcus*, destacam-se a cápsula mucinosa composta por polissacarídeos, que bloqueia a interação entre anticorpos e receptores da superfície de macrófagos; a produção de melanina e manitol, que apresentam atividades antioxidantes e favorecem o neurotropismo; e a capacidade de se desenvolver em temperaturas fisiológicas, em torno de 37°C (Galiza, 2014). Também inibe a função de plasmócitos, a migração leucocitária e a atuação do sistema complemento (Sherding, 2004).

A incidência da criptococose é maior em gatos quando comparado ao cão (Barbry, 2019), afetando principalmente felinos imunossuprimidos infectados ou não pelo vírus da imunodeficiência felina (FIV) e vírus da leucemia felina (FeLV) (Zachary; 2013). Já os caninos afetados possuem menos de 6 anos de idade (Barbry, 2019) e sua ocorrência está associada com terapia de longa duração com glicocorticoides (Zachary; 2013), infecção por *Erlichia canis*, neoplasias, diabetes mellitus, má nutrição, entre outras (Marcasso et al., 2005). Entretanto, existem relatos de casos clínicos em indivíduos não imunocomprometidos (Trabulsi, 2008).

A criptococose ocorre mais frequentemente pela inalação de leveduras fúngicas em suspensão no ar que se alojam nos tecidos nasal, paranasal e pulmonar antes de se espalhar pelo sangue (Buchanan, 1998). Os sinais clínicos da criptococose variam, dependendo dos sistemas orgânicos envolvidos. Sinais de infecção crônica do trato respiratório superior são identificados em até 80% dos gatos com criptococose e em até 50% dos cães (Sherding, 2004). As principais manifestações clínicas são espirros, respiração estertorante e corrimento nasal crônico. O corrimento nasal pode ser unilateral ou bilateral, seroso a mucopurulento ou hemorrágico (Taboada, 2010). O SNC é o local mais comum para a infecção por *Cryptococcus* spp no cão, podendo ocorrer apatia, cegueira, ataxia, andar em círculos, parestesia, paralisia, convulsões (Taboada, 2010), desvio da cabeça e déficit de nervos cranianos óptico, facial e vestibulococlear (Sherbing, 2004). O envolvimento do sistema ocular ocorre em 25% dos gatos e 40% dos cães (Sherding, 2004), podendo ocorrer secreção ocular, neurite óptica, descolamento de retina e uveíte. A infecção também pode ocorrer menos frequentemente em outros órgãos como pele, linfonodos, ossos, coração, pulmões, baço e rins (Taboada, 2010).

Macroscopicamente podem ser visualizadas lesões de aspecto gelatinoso a granulomatoso (Sherding, 2003). Lesões granulomatosas na cavidade nasal são mais características nos gatos (Taboada, 2010), que podem levar ao aumento de volume firme na ponta do nariz, à deformidade nasal ou facial (Sherding, 2004), com exsudato seroso, podendo evoluir para ulceração (Taboada, 2010). A lesão é chamada popularmente de “nariz de palhaço” (Sherding, 2004). Na infecção disseminada em cerca de 40% dos gatos e 20% dos cães é possível identificar nódulos firmes multifocais pelos órgãos afetados (Sherding, 2004). Já em 25% dos gatos e 75% dos cães, a disseminação hematogênica ou a extensão da lesão para a placa cribiforme resultam em meningoencefalite granulomatosa, onde as leptomeninges podem estar espessadas e ocasionalmente conter nódulos (Sherding, 2004).

Microscopicamente observa-se nos tecidos afetados uma grande quantidade de estruturas leveduriformes de parede espessa, de forma ovoide, esférica ou em “forma de taça”

que ocasionalmente exibem um único brotamento, onde o conjunto de vários microrganismos com suas cápsulas espessas conferem ao tecido um aspecto de “bolhas de sabão” (Zachary, 2013). No parênquima encefálico, pode ocorrer malácia, com células gitter e infiltrado piogranulomatoso, com fagocitose do agente, porém, o infiltrado de células inflamatórias pode ser brando, pois a cápsula polissacarídica interfere na migração neutrofílica (Zachary, 2013). As lesões oculares mais comumente observadas são inflamação granulomatosa multifocais da coroide, que podem progredir para um exsudato sub-retiniano com descolamento retiniano secundário, hemorragias retinianas; neurite óptica secundária a coriorretinite ou por progressão da meningite, e mais raramente abscesso retrobulbar com destruição de tecidos periféricos (Taboada, 2010).

Nem sempre as infecções micóticas apresentam alterações clínicas e lesões macroscópicas características, desta forma, o diagnóstico definitivo pode ser realizado pela cultura micológica (técnica padrão-ouro), pelas características histomorfológicas e histoquímicas (Galiza, 2014) e por técnicas moleculares (Leal, 2008). Alguns primers utilizados no diagnóstico molecular são os CNa-70S (5'- ATTGCGTCCACCAAGGAGCTC -3') e CNa-70A (5'- ATTGCGTCCATGTTACGTGGC -3'), considerados eficientes para identificação dos agentes (Leal et. al. 2008).

O diagnóstico diferencial a ser considerado na forma cutânea da criptococose (principalmente em gatos) é a esporotricose (Guarner, 2011). Além do carcinoma de células escamosas e outras afecções que ocorrem no SNC, como encefalite viral, bacteriana, meningoencefalite por protozoário, meningoencefalite granulomatosa e neoplasias (Marcasso et al., 2005).

2.3. Feo-hifomicose

Feo-hifomicose é um termo utilizado para descrever micoses oportunistas em humanos e animais causadas por fungos dematiáceos, filamentosos, que possuem melanina na estrutura da parede celular (Uchôa, 2012). A etiologia é formada por uma grande variedade de fungos, que se desenvolvem nos tecidos do hospedeiro na forma de hifas septadas, pseudo-hifas ou leveduras, dentre as quais foram identificadas em caninos *Scopulariopsis chartarum*, *Cladophialophora bantiana*, *Ochroconis gallopavum*, *Exophiala* sp, *Cladosporium cladosporioides* entre outras (Uchôa, 2012).

As Tabelas 1 e 2 retratam o tecido acometido e a variedade de espécies e gêneros de fungos dematiáceos envolvidos nas feo-hifomicoses diagnosticadas em cães e gatos (Ferreiro, 2007).

Tabela 1 – Feo-hifomicoses em gatos

Tabela 1. Feohifomicoses em gatos.

Sexo	Idade	Localização	Etiologia	Histó
F	2a	Lesões nodulares	<i>Curvularia lunata</i>	Amputação / ser
M	5a	Cauda / pata	<i>Exophiala werneckii</i>	Fármaco / i
M	9a	Metatarso direito	<i>Cladosporium</i> sp.	Cirurgia / fárm
M	8a	Nasal	<i>Exophiala jeanselmei</i>	Cirurgia / sem re
M	10a	Nasal	<i>Dissitimurus exedrus</i>	Cirur./Ceto/Rec/Itr
F	8a	Cavidade nasal	<i>Exophiala spinifera</i>	Cirurg. / Fármaco
M	9a	Focinho	<i>Phialophora verrucosa</i>	Cirurgia / recid. 3n
M	9a	Sistêmica	<i>Cladophialophora bantiana</i>	Ceto / Cefale
M	6a	Art.coxo-femural	<i>Macrophomina</i> sp.	Itra / Fluco / Ci
M	10a	Nasal	<i>Alternaria alternata</i>	Itraconazol / rec
M	4a	Nasal / 3ª falange	<i>Alternaria infectoria</i>	Itra / re

Modificadas de Ferreiro (2007).

Tabela 2 - Feo-hifomicoses em cães

M	13a	Pata anterior	<i>Mycoleptodiscus lateralis</i>	Cronicidade
---	-----	---------------	----------------------------------	-------------

Tabela 2. Feohifomicoses em cães.

Sexo	Idade	Localização	Etiologia	Tratame
F	2a	Pata (4º dedo)	<i>Curvularia lunata</i>	Amputaç
F	2a	Pata e 4 dedos	<i>Curvularia geniculata</i>	Iodeto de
F	3a	Ôssea	<i>Phialemonium obovatum</i>	Bu
F	9a	Cerebral	<i>Cladophialophora bantiana</i>	Trat. pan

Modificadas de Ferreiro (2007).

A forma clínica mais comum das feo-hifomicoses envolvem focalmente a pele e/ou tecido subcutâneo apesar de que em animais imunocomprometidos possa ocorrer a disseminação para vários órgãos (Chermette, 1997). Uma possível via de contaminação seria a nasal ou rino-sinusal, pela inalação do agente (Uchôa, 2012), sendo considerado como fatores predisponentes o hábito de enterrar as fezes e as arranhaduras que acontecem durante brigas (Ferreiro, 2007). A origem da infecção sistêmica não é clara. Supõe-se que recorrentes

lesões cutâneas sejam a principal porta de entrada, juntamente ao estado de imunossupressão, já que os fungos dematiáceos são oportunistas (Caligiorne et al., 2010).

A feo-hifomicose sistêmica foi descrita em um cão por Uchôa (2012) com presença de fungos dematiáceos no fígado, baço, rins, linfonodo hepático, testículo e cérebro, onde suspeita-se que o agente etiológico seja *C. bantiana*, por ser neurotrópico (Uchôa, 2012). A forma sistêmica também foi descrita em uma tartaruga (*Caretta caretta*), com envolvimento do peritônio e rins, sendo os fungos envolvidos: *Cladosporium cladosporioides* e *Alternata arborescens* nas lesões renais e *Ampelomyces* sp. nos granulomas peritoneais (Domiciano, 2014). A forma cerebral tem aumentado sua incidência, sendo na maioria dos casos isolado a espécie neurotrópica *Cladophialophora bantiana* (Ferreiro, 2007). Existem também outras formas raramente diagnosticadas, como a ceratomicose e ependimite (Ferreiro, 2007).

No exame histopatológico são observadas extensas áreas de necrose, associadas a infiltrado inflamatório composto por neutrófilos, macrófagos e células gigantes multinucleadas, com estruturas fúngicas intralesionais, caracterizadas por hifas septadas de parede acastanhada (Domiciano, 2014, Ferreiro, 2007) que podem ser encontradas em baço, rim, fígado, coração e encéfalo (Ferreiro, 2007). A coloração histoquímica pela Metenamina de Prata de Grocott pode auxiliar na evidenciação das hifas (Ferreiro, 2007). Porém para identificação da espécie é necessário a cultura do agente ou o uso de métodos moleculares (Domiciano, 2014).

Devido ao diagnóstico tardio e à falta de um tratamento eficaz, a morte pode ocorrer em menos de um ano (Caligiorne et al., 2010). Desta forma, infecções fúngicas como a feo-hifomicose sistêmica devem ser incluídas no diagnóstico diferencial de patologias sistêmicas não responsivas a tratamento (Caligiorne et al., 2010).

2.4 Toxoplasmose

A toxoplasmose é uma zoonose e possui como agente etiológico o *Toxoplasma gondii* um protozoário coccídeo intracelular obrigatório, parasito pertencente ao Reino Protista, Sub-reino Protozoa, Filo Apicomplexa Gênero Toxoplasma e Espécie *T. gondii*. (Galvão, 2014). Os felídeos são os únicos HD com ciclo enteroepitelial, onde ocorre esquizogonia, merogonia, gametogonia e formação de oocistos (Galvão, 2014) e todos os animais homeotérmicos servem como HI, inclusive o homem (Hill et al., 2005).

As principais formas de transmissão do *T. gondii* ocorre pela ingestão de cistos teciduais em produtos cárneos, pelo consumo de alimentos e água contaminados com oocistos

esporulados e pela infecção congênita por taquizoítos (Dubey, 1998). Cães podem ser veiculadores de oocistos de *T. gondii* ao ingerirem fezes contaminadas ou se tiverem contato em fezes de gatos, carreando oocistos em sua pelagem (Lindsay et al., 1997). Gatos também podem ser HI, assim como outros mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes, abrigando estágios extra-intestinais do parasito (Dubey et al. 2003).

Dentre as três formas evolutivas da toxoplasmose, o taquizoíto foi à primeira forma descrita, sendo o seu aspecto morfológico em forma de arco (toxon=arco) que deu nome ao gênero. O taquizoíto possui forma de meia-lua, com uma das extremidades mais afilada e outra abaulada, o núcleo central, medindo cerca de 2x6 µm. Apresenta-se móvel e de rápida multiplicação (tachos=rápido) e se encontra dentro do vacúolo parasitóforo de várias células, como do sistema fagocitário mononuclear (SFM), hepático, pulmonar, nervoso, nas camadas submucosas e musculares, além de líquidos orgânicos e excreções. Nestes tecidos se multiplicam intracelularmente causando lise celular e desencadeando uma reação inflamatória local (Kawazoe, 2005). Os bradizoítos podem ser encontrados em vários tecidos, entre eles, músculo esquelético e cardíaco, SN e retina. Essa forma é encontrada dentro do vacúolo parasitóforo da célula hospedeira, onde a sua membrana forma a cápsula do cisto tecidual contendo os bradizoítos que se multiplicam lentamente (bradi=lento). A parede desse cisto é resistente e elástica, desta forma, os bradizoítos, ficam protegidos da ação de mecanismos imunológicos dos hospedeiros. O tamanho do cisto pode variar, pois vai depender da célula parasitada e do número de bradizoítos no seu interior, podendo atingir até 200 µm. São muito resistentes à tripsina e à pepsina e podem permanecer viáveis por longos anos (Kawazoe, 2005). Os cistos sobrevivem ao frio durante várias semanas, porém não resistem ao congelamento e a temperaturas superiores a 66°C (Fortes, 2004).

Os oocistos são produzidos nas células intestinais de felinos não imunes e eliminados imaturos junto às fezes. Estes possuem parede dupla sendo resistente às condições do meio ambiente. São estruturas esféricas, que medem aproximadamente 12,5 x 11,0 µm e após a esporulação no meio ambiente contêm dois esporocistos, com quatro esporozoítos cada (Kawazoe, 2005). O oocisto se torna maduro no meio ambiente em um período de aproximadamente cinco dias após sua eliminação pelo HD (Fortes, 2004). Em condições ambientais favoráveis com temperaturas entre 20° e 30°C e com oxigenação adequada, os oocistos esporulam entre 1 a 3 dias, tornando-se rapidamente infectantes (Kawazoe, 2005), sendo essa a principal via de transmissão para outros animais (Lindsay et al., 2003). Os felinos podem eliminar centenas de milhares ou milhões de oocistos e mesmo em condições

não adequadas para o seu desenvolvimento, os oocistos podem permanecer viáveis no ambiente por até dezoito meses (Lindsay et al., 2003).

O ciclo evolutivo no HI é extra intestinal e idêntico para todos, não dependendo do estágio de evolução do *T. gondii* ingerido (Dubey, 2006). Ocorre a liberação de esporozoítos no trato digestivo, que, por via linfática e sanguínea, chegam ao fígado, SNC e outros órgãos. À medida que atingem células de tecidos extra intestinais, formam vacúolos parasitóforos e se dividem de forma assexuada. Ao se dividirem, formam novos taquizoítos que se agregam dentro da célula parasitada e quando chegam a 8 e 16 taquizoítos, rompem a célula indo infectar outras células (Dubey, 2006). A multiplicação dos taquizoítos é extremamente rápida, caracterizando a forma aguda da doença. Como consequência da resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos diminuem sua velocidade de reprodução formando cistos contendo bradizoítos, que assim são denominados devido à endodiogenia e ao crescimento lento (Menezes, 2010). Em hospedeiros imunossuprimidos o cisto se rompe liberando os bradizoítos que se tornam ativos transformando-se em taquizoítos (Dubey, 2006).

Importante frisar que felinos que adquirem a doença ainda jovens, podem eliminar oocistos nas fezes por uma a duas semanas, quando em condições ambientais favoráveis, podem se manter viáveis por aproximadamente 12 a 24 meses. Adultos imunocompetentes geralmente não eliminam estas formas evolutivas, mas quando imunossuprimidos podem excretar alguns oocistos, mas em menor quantidade do que as encontradas na infecção primária (Dubey, 1996). Os gatos eliminam e enterram suas fezes em terra ou areia, que podem permanecer no local por meses. Devido aos seus hábitos de higiene, as fezes não ficam retidas na pelagem de gatos clinicamente normais, fazendo com que a possibilidade de transmissão para seres humanos, pelo ato de tocar o pelo do animal seja pouco provável (Bresciani et al., 2013). Em animais de companhia as manifestações clínicas da toxoplasmose são variadas e, muitas vezes, semelhantes a outras enfermidades, com comprometimento de vários órgãos e sistemas (Galvão, 2014, Dubey, 2006).

Sua gravidade vai depender da localização e grau de lesão tecidual, com ocorrência de necrose devido ao comportamento intracelular do parasito. O SNC, pulmões, fígado, tecido muscular esquelético e os olhos são sítios de replicação preferidos do protozoário durante progressão da infecção (Dubey, 2006). Embora muitos animais de companhia sejam soropositivos para toxoplasmose, poucos animais desenvolvem sinais clínicos da doença (Dubey, 2006). Infere-se que a manifestação clínica da doença ocorra por uma deficiência na imunidade do hospedeiro, de modo que pacientes imunocomprometidos podem apresentar a infecção primária ou recorrente. Em gatos filhotes que foram infectados por via

transplacentária ou durante a lactação, podem ocorrer inflamações no fígado, pulmões e no SNC, cursando clinicamente como uveíte, letargia, depressão, ascite, encefalite, hipotermia e morte súbita. Em adultos com a infecção primária ou recorrente, são descritos anorexia, letargia, dispneia, pneumonia, febre intermitente, emaciação, vômito, diarreia, hiperestesia, marcha rígida, claudicação, déficit neurológico, dermatite e morte (Dubey, 2006). A toxoplasmose pode também levar ao aborto e alterações congênitas em várias espécies (Tenter, 2000).

Na necropsia os animais podem apresentar focos necróticos puntiformes no SNC, pulmões, fígado, assim como linfadenomegalia, esplenomegalia e pulmões avermelhados (Dubey, 2006). Microscopicamente no fígado, baço, pulmão e rim podem ocorrer áreas multifocais de necrose com infiltrado inflamatório de linfócitos, histiócitos e neutrófilos, associados a cistos do parasito (Graça et al., 2010). No SNC, lesões agudas apresentam cistos e taquizoítos livres nas áreas de malácia com gliose, células gitter e meningoencefalomielite mononuclear e polimorfonuclear. Quando a lesão é crônica, ela evolui para infiltrado inflamatório mononuclear, diminuindo a necrose, edema tecidual, ocasionando o aumento dos cistos e por consequência reduzindo os parasitos livres, e é nesse período que a reação inflamatória se torna granulomatosa (Graça et al., 2010). Dubey (1998), afirma que a associação de cinomose e toxoplasmose ocorrem em 99% dos casos clínicos. A cinomose leva a imunossupressão facilitando a reativação de parasitos em fase de latência (Swinger, 2009). Historicamente, a prevalência da toxoplasmose vem diminuindo devido ao uso de vacinas contra cinomose (Dubey, 1998). O diagnóstico pode ser realizado pelo exame histopatológico associado a técnica de imuno-histoquímica (Nakagaki et al., 2016, Mesquita et al., 2018) e PCR (Bresciani et al., 2013).

2.5 Neosporose

A neosporose é uma doença de distribuição mundial responsável por aborto e morte neonatal em bovinos, equinos, ovinos, caprinos e cervídeos, entre outras espécies (Dubey, 2003). Em cães a doença foi demonstrada pela primeira vez em filhotes, da raça boxer que adoeceram na Noruega com sinais clínicos de meningoencefalite e miosite, parecidos com os causados por *T. gondii* (Dubey et al., 1988).

N. caninum é um parasito intracelular obrigatório, formador de cisto, pertencente ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, subclasse Coccidia, ordem Eucoccidia, subordem Eimeriina e família Sarcocystidae, assim como os gêneros *Toxoplasma*, *Sarcocystis*,

Hammondia e Besnoitia (Dubey et al., 2003). No gênero Neospora, apenas duas espécies são conhecidas, sendo estas, o *N. caninum*, isolado de cérebro de cão e *N. hughesi* isolado em cérebro e medula espinhal de equinos (Marsh et al., 1998). Em seres humanos não há relatos de casos da doença, embora já tenham sido identificados anticorpos anti-*N. caninum* em pacientes portadores do vírus HIV (Lobato, 2006) e o parasito tenha sido, facilmente cultivado em várias linhagens de célula humanas, como de trofoblasto e do cervix uterino (Dubey et al, 2006). Assim como não há relatos da doença clínica espontânea em felinos, embora experimentalmente a infecção já tenha sido reproduzida (Dubey, 1988).

Os HD são o cão (*Canis familiaris*) e outros canídeos selvagens e os HI podem ser várias espécies animais (Dubey et al., 2006). O ciclo de vida do *N. caninum* se divide em três estágios infecciosos: taquizoítos, bradizoítos e oocistos (Dubey, 2006). Os HD eliminam oocistos não esporulados nas fezes, após a ingestão de tecidos ou órgãos dos hospedeiros intermediários infectados com cistos teciduais. Os oocistos não esporulados medem em torno de 10-11µm de diâmetro. A esporulação ocorre em torno de 24 horas após a eliminação dos oocistos nas fezes e medem $11,7 \times 11,3\mu\text{m}$ (Dubey, 2006). Os cães geralmente eliminam poucos oocistos por um curto período de tempo (Basso et al., 2010) e estes são morfologicamente semelhantes aos oocistos de *Toxoplasma gondii* e de *Hammondia* spp, (Dubey et al., 2003).

Os cistos de *N. caninum* são arredondados a ovalados, revestidos por uma parede espessa que pode chegar até 4 µm, e são preenchidos por bradizoítos medindo aproximadamente 8 x 2µm, alongados e com um núcleo subterminal, encontrados principalmente no SNC e musculatura esquelética (Dubey et al., 2003). Os taquizoítos são ovoides, lunares ou globulares, medem de 3,0 a 7,0 x 1 a 5µm (dependendo do estágio de divisão) e dividem-se em dois zoítos por endodiogenia. Em carnívoros infectados, os taquizoítos são encontrados dentro de macrófagos, células tubulares renais, células polimorfonucleares, neurônios, fibroblastos, endotélio vascular, miócitos e hepatócitos (Dubey et al., 1998).

Cadelas naturalmente infectadas podem transmitir por via transplacentária o NC para sua ninhada (Dubey, 1998). Cães com neosporose podem apresentar paralisia ascendente, principalmente nos membros pélvicos, com hiperextensão rígida ou flácida, decorrente da poliradiculoneurite e miosite causadas pela infecção (Dubey et al; 1988). Também podem ocorrer outras disfunções, como a dificuldade de deglutição, paralisia do maxilar, cegueira, convulsões, incontinência urinária e fecal, flacidez e atrofia muscular e insuficiência cardíaca (Fortes, 2004). Os cães podem sobreviver durante meses com paralisia progressiva,

meningoencefalite, insuficiência cardíaca, complicações pulmonares e muitas vezes precisam ser eutanasiados (Barber, 1996). No entanto, outros filhotes podem carregar a infecção subclínicamente com possível reativação, causando alterações cutâneas, neurológicas ou musculares, após algum evento imunossupressor, como o uso de anti-inflamatórios esteroidais, quimioterapia ou doenças intercorrentes (Dubey, 1998). Em cães adultos a apresentação é mais variada, onde além dos sinais neuromusculares, pode ocorrer dermatite piogranulomatosa, miocardite e pneumonia.

A neosporose pode ser de difícil diagnóstico clínico em caninos, pois os sinais nervosos apresentados são comuns de outras patologias como traumatismos, doença do disco intervertebral, cinomose, raiva, toxoplasmose, entre outros (Farias, 2002). O exame sorológico anti- *N. caninum* é o diagnóstico mais utilizado para a identificação de casos suspeitos de neosporose. Todavia, a presença de anticorpos isoladamente não quer dizer que o animal apresenta a doença, uma vez que a maioria dos cães soropositivos, não apresentam sinais clínicos (Gondim et al., 2005). A biópsia da musculatura é considerada importante para o diagnóstico de neosporose, podendo ocorrer a visualização do parasito (Dubey et al., 1998, Dubey e Lappin, 2006).

As lesões macroscópicas na neosporose são raras, porém, durante a necropsia amostras do cérebro, pulmões, coração, fígado, esôfago, intestino, baço, linfonodos, pâncreas, rins, língua e musculatura estriada devem ser coletadas para análise histopatológica (Basso et al., 2001). Podendo ocorrer na neosporose canina mineralização e focos branco-amarelados na musculatura esquelética; hepatomegalia, pneumonia, hipoplasia cerebelar e dermatite ulcerativa, associadas ou não a áreas multifocais de necrose (Dubey e Lindsay, 1996). Na fase aguda da doença há uma ampla distribuição dos taquizoítos, que ficam restritos aos tecidos neuromusculares, sendo que os músculos mais frequentemente afetados em cães são o quadríceps femoral, masseter e músculos temporais, seguidos da musculatura do esôfago e cardíaca (Dubey e Lindsay, 1996).

As lesões microscópicas no cérebro consistem em encefalite não supurativa, caracterizada por, áreas multifocais de infiltrado inflamatório mononuclear, comumente ao redor de um centro de necrose, gliose e manguitos perivasculares multifocais. No coração pode ser encontrado miocardite não supurativa moderada à acentuada e as lesões hepáticas consistem em infiltrado mononuclear periportal e focos de necrose hepatocelular (Varaschin et al., 2012). A coloração HE evidencia poucas estruturas parasitárias. Estas estruturas podem ser encontradas em vários órgãos, sendo mais frequente identificada no sistema nervoso e musculatura esquelética. Os cistos de *N. caninum* apresentam uma parede mais espessa

(>1 μm) do que os de *T. gondii* (<0,5 μm) e, por isso, cora-se positivamente à técnica histoquímica de PAS (ácido periódico de Schiff) (Dubey et al., 2003). As lesões são mais frequentes no córtex do que a porção média e superior do tronco cerebral, sendo a substância cinzenta mais gravemente afetada no cérebro e substância branca na medula espinhal. No entanto, necrose cortical e inflamação do cerebelo podem ser os achados predominantes em alguns cães (Barber, 1996). Para confirmação do diagnóstico post mortem é essencial o uso da técnica de imuno-histoquímica, que permite a detecção de taquizoítos e cistos nos tecidos (Varaschin et al., 2012).

O diagnóstico através da Reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido muito utilizado no diagnóstico da neosporose, pois apresenta alta sensibilidade (Hurcová et al., 2006), permitindo a detecção do DNA do parasito nos tecidos do hospedeiro intermediário e nas fezes do hospedeiro definitivo (Gondim et al., 2005).

2.6 Sarcocistose

O gênero *Sarcocystis* pertence ao Filo *Protozoa* e da Família *Sarcocystidae*, representando organismos coccídeos com ciclos de vida obrigatórios e/ou facultativos (Pescador et al., 2007).

As distintas espécies de *Sarcocystis* estão relacionadas ao ciclo presa-predador. Assim, seu ciclo de vida é heteroxeno, com estágios assexuados ocorrendo nos hospedeiros intermediários (presas) e um estágio sexuado nos hospedeiros definitivos (predadores) (Nakasato et al., 2008). Esse protozoário possui animais carnívoros, como cães, gatos e seres humanos, como hospedeiros definitivos, e vários hospedeiros intermediários, incluindo aves, répteis, pequenos roedores, herbívoros e suínos (Carlton, 1995). Nos hospedeiros definitivos, o parasito desenvolve uma fase intestinal que culmina na produção de oocistos, contendo dois esporocistos similares, cada um com quatro esporozoítos. Já nos hospedeiros intermediários, a infecção por *Sarcocystis* resulta na formação de cistos nos tecidos, que, quando maduros, contêm uma grande quantidade de merozoítos (Nakasato et al., 2008). Quando um herbívoro ingere os oocistos, os esporozoítos são liberados dos esporocistos no intestino. Em seguida, esses esporozoítos invadem os tecidos, formando esquizontes nas células endoteliais dos vasos sanguíneos da maioria dos órgãos (Carlton, 1995). Portanto, a doença é considerada significativa, especialmente em animais de produção, devido ao impacto dos esquizontes nos vasos sanguíneos (Nakasato et al., 2008). A formação de cistos no tecido muscular, em geral, não é patogênica. A ocorrência desse protozoário na população canina está associada aos

padrões alimentares desses animais. Cães que se alimentam de carne crua, seja através de pequenos mamíferos e aves ou ao receber carne e órgãos crus ou mal cozidos que contenham cistos musculares viáveis, possuem um maior potencial de infecção por esse protozoário (Labruna et al., 2006).

Cães podem desenvolver sinais neurológicos associados a algumas espécies de *Sarcocystis*, entre eles *Sarcocystis neurona*, onde as lesões microscópicas consistem em encefalite ou meningoencefalite associada a necrose, com infiltrado inflamatório de macrófagos, neutrófilos, linfócitos e ocasionalmente eosinófilos. Pequenos vasos sanguíneos com células endoteliais hipertrofiadas podem estar presentes circundando essas regiões (Cooley,2007).

Os organismos protozoários costumam ser numerosos e geralmente podem ser encontrados no interior de neurônios, de células da glia, células epiteliais ou no parênquima associados a inflamação acentuada (Dubey, 2006); ocasionalmente, esquizontes podem ser identificados na periferia dos focos de inflamação. Os esquizontes consistem em aglomerados de protozoários ovais a ligeiramente alongados ou em forma de foice, com aproximadamente 3 por 2 μm (Cooley,2007). Alguns esquizontes formam rosetas distintas, com merozoítos arranjados radialmente ao redor de material granular acelular central. Os organismos se coram intensamente tanto com anticorpos policlonais quanto monoclonais para *S. neurona*. Não havendo marcação positiva com anticorpos para *T. gondii* ou *N. caninum* (Cooley,2007).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As doenças fúngicas e parasitárias em animais de companhia devem ser consideradas no diagnóstico diferencial de animais com sintomatologia nervosa, mesmo as menos frequentes e negligenciadas, como a neurocisticercose, principalmente em áreas de vulnerabilidade econômica da população e conseqüentemente da falta de acesso a informações. Pesquisa recente confirmou essa informação com o relatado da ocorrência do complexo teníase-cisticercose nos assentamentos rurais da reforma agrária em Minas Gerais. Por outro lado, o crescimento dos casos de criptococose estão diretamente associados ao aumento da população de pombos e de matéria orgânica nas cidades, associados a dificuldade de implementação de medidas de controle dessa população. Os achados reforçam a importância do diagnóstico e da vigilância constante destas enfermidades, assim como da associação de vários métodos de diagnóstico, que incluem desde a caracterização das lesões até o uso de técnicas moleculares.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO-NIETO, E. C. et al. Taeniasis-cysticercosis complex in the agrarian reform rural settlements, Brazil. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. v.42: e07028, 2022.
- BASSO, M. S, et al. Cysticercosis and neurocysticercosis as pathogens affecting the nervous system. *Progress in Neurobioly*, v.91, p. 172-184. 2010.
- BAIRD, R. A. Evidence-based guideline: treatment of parenchymal neurocysticercosis: report of the guideline development subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, v. 80, p. 1424–1429, 2013.
- BANSAL, R. et al. Racemose variant of neurocysticercosis: a case report. *Journal of Veterinary Parasitology*, 1–4, 2014.
- BARBER, J.S., TREES, A.J. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *The Veterinary Record*. 139, 439-443, 1996.
- BARBRY, J. B., et al. Cryptococcosis with ocular and central nervous system involvement in a 3-year-old dog. *Clinical case reports*, v, 7, n. 12, pp. 2349–2354, 2019.
- BOBES, R.J. et al. Evolution, molecular epidemiology and perspectives on the research of taeniid parasites with special emphasis on *Taenia solium*. *Infection, Genetics and Evolution*. vol. 23, 150–160, 2014.
- BRESCIANI, K. D. S., et al. Epidemiology and control of toxoplasmosis in cats. *Toxoplasma gondii: Prevalence in Humans and Animals, Genetic Structure and Role in Disease Distribution*. Nova Publishers, v. 23, n. 1, p. 95-108, 2013
- BUCHANAN, K.L, et al. What makes *Cryptococcus neoformans* a pathogen. *Emerging Infectious Diseases*., v. 4, n.1, p. 71 a 83, 1998.
- CALIGIORNE, R. B. et al. Fungos dematiáceos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n.1, p.22-25, 2010.
- CARLTON, W.W. et al. *Patologia Veterinária Especial*. 2ed. Porto Alegre: Artmed, P. 440., 2005.
- CHERMETTE R., et al. *Exophiala spinifera* nasal infection in a cat and a literature review of feline phaeohyphomycoses. *Journal de Mycologie Médicale*. v.7, p. 149-158, 1997.
- COOLEY, A. J., et al. *Sarcocystis neurona* Encephalitis in a Dog. *Veterinary Pathology*. v. 44, p. 956–961, 2007.
- CORAL-ALMEIDA, M. et al. *Taenia solium* human cysticercosis: a systematic review of sero-epidemiological data from endemic zones around the world. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 9, 1–20, 2015.
- DEL BRUTTO, O.H. Neurocysticercosis: a review. *The Scientific World Journal*, 1–8, 2012.
- DOMICIANO, I. G., et al. Phaeohyphomycoses in a Free-Ranging Loggerhead Turtle (*Caretta caretta*) from Southern Brazil. *Mycopathologia*, v. 178, p.123–128. 2014.
- DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and neosporosis. In: GREENE, C. E. *Infectious diseases of the dog and cat*. 2. ed. Philadelphia: WB Saunders Company. cap. 90, p. 493-503, 1998.
- DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and neosporosis. In: GREENE, C. E. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3. ed. St. Louis: Elsevier, p. 754-775, 2006.
- DUBEY, J.P. et al. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean Journal Parasitology*. v.41, p.1-16, 2003.
- DUBEY, J.P. et al. Clinical *Sarcocystis neurona*, *Sarcocystis canis*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* infections in dogs. *Veterinary Parasitology*. v.137, p. 36–49, 2006.
- DUBEY, J.P., et al. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. v. 192, n.9, p. 1269-1285. 1988.

- DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v. 67, p.1-59, 1996.
- FARIAS, N. A. R. Neosporose: uma enfermidade a ser estudada. *Ciência e Tecnologia Veterinária*, v. 1, n. 1, p. 5-14, 2002.
- FERREIRO, L. et al. Feo-hifomicoses: infecções micóticas emergentes. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.35, n.2, p.239-241, 2007
- FLEURY, A. et.al. A Lateral Flow Assay (LFA) for the rapid detection of extraparenchymal neurocysticercosis using cerebrospinal fluid. *Experimental Parasitology*. 171, 67–70, 2016.
- FOGANG, Y.F., et.al. Manging neurocysticercosis: challenges and solutions. *International Journal of General Medicine*. 8, 333–344, 2015.
- FORTES. E. *Parasitologia Veterinária; Ícone*; 4. ed. rev., ampl. e atual, Paulo. 607 p 159-173, 2004.
- GABRIEL, S. et.al. Added value of antigen ELISA in the diagnosis of neurocysticercosis in resource poor settings. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. vol 6, 2012.
- GALIZA, G.J.N.; et al. Características histomorfológicas e histoquímicas determinantes no diagnóstico da criptococose em animais de companhia. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 34, n.3, p. 261-269, 2014.
- GALVÃO, A. et. al. Aspectos da toxoplasmose em pequenos animais. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 35. n 1 p. 393-41, 2014.
- GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; GAO, L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 134, p. 33-39, 2005.
- GRAÇA, D.L. et. al. Patologia do sistema nervoso. In: Santos, R. LIMA. de.; ALESSI, A.C. *Patologia veterinária: Roca*. Cap. 8. p. 589-591, 2010.
- GRAZZIOTIN, A. L. Epidemiologic pattern of patients with neurocysticercosis diagnosed by computed tomography in Curitiba, Brazil. *Neuro-Psiquiatria journal*, v.68, p.269-272. 2010.
- GUARNER, J. et. al. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st Century. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 24, n. 2, p. 247-280, 2011.
- HEADLEY, S.A.; et al. Pathologic, histochemical, and immunohistochemical findings in pulmonary and encephalitic cryptococcosis in a goat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 31, n. 1, p. 69–73. 2019.
- HILL, D. E. et. al. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Animal Health Research Reviews*. v. 6, p. 41-61, 2005.
- HURCOVÁ, L. et. al. PCR detection of *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Encephalitozoon cuniculi* in brains of wild carnivores. *Veterinary Parasitology*, v. 137, p. 150-154, 2006.
- JARDIM et al. Diferenciação específica entre *Taenia saginata* e *Taenia solium* por ensaio de PCR e duplex- PCR. *Ciência Rural*, v.36, n.1,2006.
- KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D.P. *Parasitologia Humana*. 11ª ed. Atheneu, p. 163-172, 2005.
- KIMURA-HAYAMA, E.T., et. al. Neurocysticercosis: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics* 30, 1705–1719, 2010.
- LABRUNA, M. B. et. al. Prevalência de endoparasitas em cães da área urbana do município de Monte Negro, Rondônia. *Arquivo Instituto Biológico*, v.73, n.2, p.183-193, 2006
- LEAL, A. L. et al. Cryptococcus species identification by multiplex PCR. *Medical Mycology*, 46, 377 383, June 2008.
- LINDSAY, D. S., et al. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 73, n. 1-2, p. 27-33, 1997.

- LOBATO, J. et al. et al. Detection of Immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. *Clinical and Vaccine Immunology journal*, v.13, p.84-89, 2006.
- MARCASSO, R. A. et al. Criptococose no sistema nervosa de cães—relato de três casos. *Ciências Agrárias*, v. 26, n. 2, p. 229-238, 2005.
- MARSH, A.E. et al. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *The Journal of Parasitology*, v. 84, p. 983-991, 1998.
- MENEZES, R.C.A. Coccídios. In: MONTEIRO, S.G. *Parasitologia na medicina veterinária*. São Paulo: Roca, cap. 15, p. 149-151, 2010.
- MESQUITA, L.P. et al. Placental lesions associated with abortion and stillbirth in goats naturally infected by *Neospora caninum*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.38, p.444 - 449, 2018
- NAKAGAKI, K. Y. R., et al. Lesions and distribution of *Neospora caninum* in tissues of naturally infected female goats. *Small ruminant research*, v.140, p.57 - 62, 2016.
- NAKASATO, F. H. et. al. *Sarcocystis* spp: revisão de literatura. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*. Ano VI –11, 2008
- OKELLO, A.L., et. al. Raising the political profile of the neglected zoonotic diseases: three complementary European commission-funded projects to streamline research, build capacity and advocate for control. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. Dis. 9 (3), 2015.
- PAPPALARDO M.C.S.M. & MELHEM M.S.C. Cryptococcosis: A review of the Brazilian experience for the disease. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*. 45(6):299-305. 2003.
- PESCADOR, C. A. et al. Aborto ovino associado com infecção por *Sarcocystis* sp. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 27, n. 10, 2007.
- QUINN, P. J. et al. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Artmed. cap. 40, p. 235-237, 2005.
- SAFADI, M. A. P. Toxoplasmose. *Pediatria Moderna*, v. 36, n. 1-2, p. 7-23, 2000.
- SAKO, Y, et. al. Comparative study of paired serum and cerebrospinal fluid samples from neurocysticercosis patients for the detection of specific antibody to *Taenia solium* immunodiagnostic antigen. *Tropical Medicine and Health* 43(3):171-6, 2015
- SCHANTZ, P.M., et. al. Potential eradicability of taeniasis and cysticercosis. *Bull. Pan American Health Organization*. 27, 397–403, 1993.
- SCHWAN, et al. Cerebral cysticercosis in a cat. *Journal of the South African Veterinary Association* 73(4): 219–22. 2002.
- SHERDING, R. G. Micoses sistêmicas. In: BICHARD, S. J.; SHERDING, R. G. *Clínica de pequenos animais*. Roca. cap. 20, p. 215-222, 2004.
- SINGHI, P., et. al. Neurocysticercosis: a review of current status and management. *Journal of Clinical Neuroscience*. 16, 867–876, 2009.
- SORRELL, T. C. *Cryptococcus neoformans* variety *gattii*. *Medical Mycology*, v. 39, n. 2, p. 155-168, 2001.
- SUJA, M.S. et. al. Cerebral cysticercosis mimicking rabies in a dog. *Veterinary Record*, 153, 304-305. 2003.
- SWINGER, R. L et. al. Keratoconjunctivitis associated with *Toxoplasma gondii* in a dog. *Veterinary Ophthalmology*. v. 12, n. 1, p. 56-60, 2009.
- TABOADA, J, GROOTERS, A.M. Cryptococcosis In Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 7th ed: Saunders Elsevier; 988-992. 2010.
- TAKAYANAGUI, O.M., ODASHIMA, N.S. Clinical aspects of neurocysticercosis. *Parasitology*. Institute. 55, 111–115, 2006.

- TAPE, D et al. Molecular Identification of Zoonotic Tissue-Invasive Tapeworm Larvae Other than *Taenia solium* in Suspected Human Cysticercosis Cases. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 54, n.1, 2016
- TENTER, A. M., et al. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*. v. 30, p. 1217-1258, 2000.
- TRABULSI, L. R.; ALTHERTUM, F. *Microbiologia*. 5ed. São Paulo-SP: Atheneu. cap. 69, p. 521-523, 2008.
- UCHÔA, I.C.P., et al. Feo-hifomicose sistêmica em cão. *Ciência Rural.*; 42(4):670-674, 2012.
- VARASCHIN, M.S., et al. Congenital neosporosis in goats from the State of Minas Gerais. *Korean Journal of Parasitology*, 2012.
- ZACHARY, J. F.; McGAVIN, M. D. *Bases da Patologia em Veterinária*. 6ed. Rio de Janeiro: Elsevier. p. 1324, 2013.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 – Neurocisticercose em um cão

Ciência Rural, Qualis A4

Neurocysticercosis in a dog Neurocisticercose em um cão

ABSTRACT: Neurocysticercosis (NCC) is a neglected parasitic disease of the central nervous system (CNS) in humans, caused by the larval form of *Taenia solium*. However, cerebral infection by metacestodes in companion animals, are rare or not diagnosed. This study describes the pathological and parasitological aspects of a neurocysticercosis in an eight-years-old dog, with clinical signs of limb stiffness (spasticity), wheezing and convulsions. At necropsy, three parasitic cysts were found in the brain and calcified cysts in the myocardium and lungs. Diagnosis was based on parasite morphology after cyst dissection and scanning electron microscopy. The protoscolex of *Cysticercus cellulosae* appeared as a semi-translucent vesicle containing a rostellum with hooks arranged in two rows, forming a double crown, and four suckers. The findings demonstrate that although rare, neurocysticercosis should be considered in dogs with clinical neurological signs.

Key words: CNS parasitic diseases, *Cysticercus cellulosae*, *Taenia solium*, Nervous System Pathology.

RESUMO: Neurocisticercose (NCC) é uma doença parasitária negligenciada do sistema nervoso central (SNC) de humanos, causada pela forma larval da *Taenia solium*. No entanto, a infecção cerebral por metacestodes em animais de companhia são raras ou subdiagnosticadas. Este estudo descreve os aspectos patológicos e parasitológicos da neurocisticercose em um cão de oito anos de idade, que apresentou clinicamente rigidez de membros (quadro espástico), respiração ofegante e convulsão. Na necropsia, foram encontrados três cistos parasitários no encéfalo e cistos calcificados no miocárdio e nos pulmões. O diagnóstico foi baseado na morfologia do parasito após dissecação do cisticerco e realização de microscopia eletrônica de varredura. O protoescólex do *Cysticercus cellulosae* apresentou-se como uma vesícula semitranslúcida contendo um rostelo com ganchos dispostos em duas fileiras, formando uma coroa dupla e quatro ventosas. Os achados demonstram que apesar de rara a neurocisticercose deve ser considerada no diagnóstico diferencial em caninos com sinais clínicos neurológicos.

Palavras-chave: Doenças parasitárias do SNC, *Cysticercus cellulosae*, *Taenia solium*, Patologia do Sistema Nervoso.

As doenças parasitárias que acometem o SNC são em sua maioria, de ocorrência rara ou subdiagnosticadas em animais. A neurocisticercose é causada pela presença de larvas encapsuladas da *Taenia solium* (*Cysticercus cellulosae*), sendo considerada no homem a parasitose mais frequente do SNC e um sério problema de saúde pública em países com condições sanitárias ruins (GRAZZIOTIN et al., 2010). No Brasil recentemente foi relatada a ocorrência do complexo teníase-cisticercose nos assentamentos rurais da reforma agrária no estado de Minas Gerais (ACEVEDO-NIETO et al., 2022). Por outro lado, casos de cisticercose cerebral são raramente relatados em cães (SUJA et al., 2003) e gatos (SCHWAN et al., 2002).

A identificação da espécie de cisticerco pode ser realizada por meio de suas características morfológicas (WÜNSCHMANN et al., 2003) ou por meio de técnicas moleculares (TAPE et al., 2016). Ao ser dissecado, o *Cysticercus cellulosae* apresenta-se como uma vesícula semitranslúcida que contém apenas um protoescólex invaginado em seu interior. O protoescólex possui um rostelo com ganchos dispostos em duas fileiras (dupla coroa) e quatro ventosas (SCHWAN et al., 2002).

O ciclo de vida da *Taenia solium* é complexo e tem o homem como hospedeiro definitivo (HD) e tanto os seres humanos como os suínos como hospedeiros intermediários (HI) (CORAL-ALMEIDA, 2015). No entanto, os cães também podem atuar como hospedeiros intermediários da teníase (ITO, 2002).

Em seres humanos, a cisticercose pode ocorrer de forma indireta ou por heteroinfecção, quando há a ingestão acidental de ovos de *Taenia solium* presentes em alimentos ou água contaminados. Além disso, a infecção pode ocorrer por meio da infecção direta ou autoinfecção, que se dá pela ingestão de ovos das próprias têniase presentes no indivíduo ou por antiperistaltismo. Nos hospedeiros intermediários, a infecção ocorre quando há a ingestão de fezes humanas que contêm ovos do parasito, contaminando o ambiente (MENEZES, 2011).

Cães com NCC podem apresentar clinicamente náuseas, aumento da salivação, vômitos, convulsões, nistagmo, anisocoria, falta de resposta pupilar, cegueira, ataxia, dificuldade em manter-se em pé, rigidez nos membros torácicos e hiperreflexia nos membros pélvicos (SCHWAN et al., 2002), assim como, sinais de agressividade, semelhantes aos observados na raiva (SUJA et al., 2003). A presença dos cistos no SNC pode desencadear uma resposta inflamatória de intensidade variada, sendo que nos cistos necrosados ou calcificados esta é mais acentuada do que nos cistos viáveis, uma vez que, o seu reconhecimento pelo sistema imunológico pode demorar (WÜNSCHMANN et al., 2003).

Também podem ocorrer infartos cerebrais pela compressão de vasos sanguíneos (DEL BRUTTO, 2012), hidrocefalia, principalmente quando localizados próximos ao aqueduto mesencefálico, dores de cabeça intensas e vômitos (SCHWAN et al., 2002).

Para o diagnóstico da NCC, várias técnicas podem ser utilizadas, incluindo a avaliação macroscópica e microscópica das lesões. Na necropsia, pode ser observado herniação do cerebelo através do forame magno, indicando aumento da pressão intracraniana, e nos hemisférios cerebrais, cistos esféricos com parede fina, semitransparentes, contendo líquido e um único escólex invaginado (SCHWAN et al., 2002). Microscopicamente pode ocorrer moderado exsudato eosinofílico ao redor do cisto ativo (GRAÇA, 2010), ausência de inflamação, ou um exsudato granulomatoso acentuado, que é uma causa importante de epilepsia e outros sinais neurológicos (WÜNSCHMANN et al., 2003). Desta forma, este estudo descreve os aspectos patológicos e parasitológicos da neurocisticercose em um cão, reforçando a necessidade de vigilância desta enfermidade e de considerá-la no diagnóstico diferencial em animais com manifestações clínicas neurológicas.

Foi encaminhado para necropsia no Setor de Patologia Veterinária da UFLA um canino, de 8 anos de idade, Boxer, fêmea, com histórico de ter sido encontrada caída, com rigidez de membros, respiração ofegante, desidratada, com quadro espástico e convulsivo. Na necropsia, foram observados três cistos parasitários, de 0,5 a 0,8cm de diâmetro, de coloração branco-amarelada, o primeiro localizado no lobo parietal direito (Figura 1A), entre os sulcos e comprimindo o tecido cerebral cortical, o segundo no lobo frontal esquerdo, protruindo 0,5cm através das leptomeninges e o terceiro cisto na aderência intertalâmica, recoberto por tecido cerebral, à esquerda da fissura longitudinal. Foram observados ainda, cistos calcificados no miocárdio do ventrículo esquerdo e áreas multifocais de calcificação nos pulmões. Amostras de tecidos foram coletadas e fixados em formalina tamponada a 10% e rotineiramente processados para o exame histopatológico. Microscopicamente foi observada estrutura parasitária císticas, constituída por escólex com ganchos na parede, envolta por uma cápsula fibrosa (Figura 1B) circundada e invadida por eosinófilos, macrófagos e raros linfócitos. O terceiro cisto estava calcificado, circundado por infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, e por raros eosinófilos.

O segundo cisticercos foi retirado do SNC e dissecado em microscópio estereoscópico com auxílio de pinça e estilete, a fim de se observar a morfologia do protoescólex. O material dissecado foi fixado em formol acético a frio e, em seguida, conservado em álcool etílico 70%. Na sequência o protoescólex também foi submetido a microscopia eletrônica de varredura. Este foi colocado no interior de recipiente com tela, lavado por três vezes em

tampão cacodilato 0,05M, por 10 minutos cada e imerso em solução de tetróxido de ósmio 1% por uma hora, no interior da capela. A amostra fixada foi lavada com água destilada e desidratada em soluções de concentração crescente de acetona (25, 50, 75, 90 e 100% por três vezes), por 10 minutos em cada uma, colocada em gaiola individual, identificada e encaminhada para secagem ao ponto crítico. Antes de ser montada no stub, foi encaminhada para estereoscópico para montagem do lado correto. Após montagem foi realizado o banho de ouro.

À dissecação, o cisticerco demonstrou-se como uma vesícula semitranslúcida, com apenas um protoescólex invaginado em seu interior, contendo um rostelo com ganchos dispostos em duas fileiras, formando uma coroa dupla, e quatro ventosas (Figura 2A). Na microscopia eletrônica de varredura, ficou melhor evidenciada a dupla coroa de ganchos rostelares curvos de morfologia compatível com o *Cysticercus cellulosae* da *T. solium*, conforme descrito por Schwan et al. (2002). O aspecto macroscópico dos *Cysticercus* é semelhante, sendo necessária a avaliação morfológica detalhada para chegar a espécie (Fortes, 2004).

A localização dos cistos comprimindo o parênquima cerebral cortical justifica os sinais neurológicos de rigidez de membros, quadro espástico e convulsivo apresentado pelo cão deste relato, indicando o envolvimento de neurônios motores superiores, como descrito por Del Brutto (2012).

No caso aqui descrito o diagnóstico de neurocisticercose foi baseado nos achados de necropsia e histopatologia, associados a morfologia do parasito, melhor evidenciado pela dissecação do mesmo e pela microscopia eletrônica de varredura. Os achados demonstram que apesar de rara a neurocisticercose deve ser considerada no diagnóstico diferencial em caninos com sinais clínicos neurológicos.

AGRADECIMENTOS

Para Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil – (Codigo 001) pela bolsa de mestrado e a Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de Minas Gerais pelo suporte financeiro (Processo APQ – 01699-22), bolsas de mestrado e de Iniciação Científica.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

The authors declare no conflict of interest.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram de forma equalitária para o manuscrito.

REFERENCES

- ACEVEDO-NIETO, E. C. et al. Taeniasis-cysticercosis complex in the agrarian reform rural settlements, Brazil. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. v.42: e07028, 2022.
- CORAL-ALMEIDA, M. et al. Taenia solium human cysticercosis: a systematic review of sero-epidemiological data from endemic zones around the world. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 9, 1–20, 2015.
- DEL BRUTTO, O.H. Neurocysticercosis: a review. *The Scientific World Journal*, 1–8, 2012.
- DOMINGO, A.M. Current status of some zoonoses in Togo. *Acta Tropicalis*, v. 76, n.1, p.65-69. 2000.
- FOGANG, Y.F., et.al.. Manging neurocysticercosis: challenges and solutions. *International Journal of General Medicine*. 8, 333–344, 2015.
- FORTES. E.. *Parasitologia Veterinária; Ícone*; 4. ed. rev., ampl. e atual; São Paulo. 607 p 159-173, 2004.
- GRAÇA, D.L. et al. Patologia do sistema nervoso. In: Santos, R. LIMA. de.; ALESSI, A.C. *Patologia veterinária*. Roca. Cap. 8. p. 589-591, 2010.
- GRAZZIOTIN A. L. Epidemiologic pattern of patients with neurocysticercosis diagnosed by computed tomography in Curitiba. *Neuro-Psiquiatria journal*, v.68, p.269-272. 2010.
- KIMURA-HAYAMA, E.T. et. al. Neurocysticercosis: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics* 30, 1705–1719, 2010.
- MENEZES, R.de.C.A. Coccídios. In: MONTEIRO, S.G. *Parasitologia na medicina veterinária*. São Paulo: Roca, cap. 15, p. 149-151, 2010
- SCHWAN, et al. Cerebral cysticercosis in a cat. *Journal of the South African Veterinary Association* 73(4): 219–22. 2002.
- SINGHI, P., et. al. Neurocysticercosis: a review of current status and management. *Journal of Clinical Neuroscience*. 16, 867–876, 2009.
- SUJA, M.S. et al. Cerebral cysticercosis mimicking rabies in a dog. *Veterinary Record*, 153, 304-305. 2003.
- TAPE, D et al. Molecular Identification of Zoonotic Tissue-Invasive Tapeworm Larvae Other than Taenia solium in Suspected Human Cysticercosis Cases. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 54, n.1, 2016

Figuras e Legendas

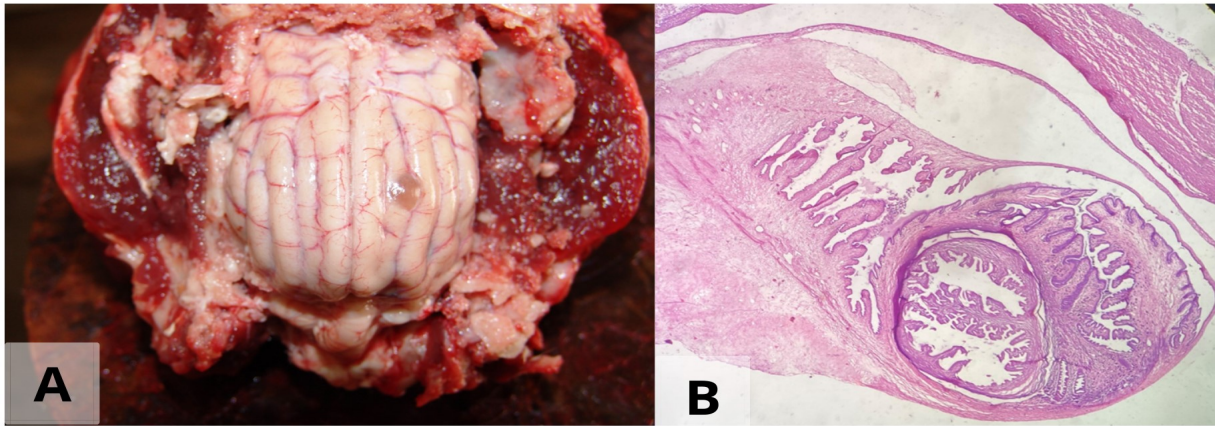


Fig 1. Neurocisticercose em um canino. A: Cisto parasitário (cisticerco) em lobo parietal direito do cérebro; B: Aspecto microscópico do cisticerco, evidenciando o protoescoléx do parasito, H.E.obj.40x.

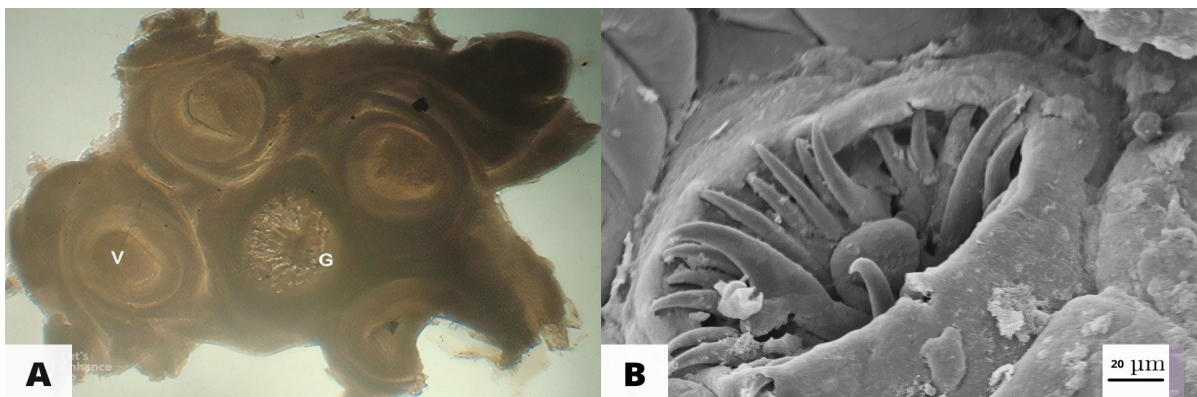


Fig. 2. *Cysticercus cellulosae*. A: Protoescoléx com quatro ventosas (V) e coroa de ganchos (G) (Obj.40x), em microscópio estereoscópico. B: Dupla coroa de ganchos rostellares curvos. Microscopia eletrônica de varredura. Barra 20 μm .

ARTIGO 2 – Aspectos patológicos de parasitos da família Sarcocystidae diagnosticados em cães e gatos de Minas Gerais

Trabalho escrito conforme as normas do periódico Ciência Rural – Qualis A4

**Pathological aspects of Sarcocystidae family parasite diagnosed in dogs and cat
in Minas Gerais**

**Aspectos patológicos de parasitos da família Sarcocystidae diagnosticados em
cães e gatos de Minas Gerais**

ABSTRACT: This study describes the frequency and pathological aspects of toxoplasmosis in sixteen dogs and two cats, and infection by a protozoan similar to *N. caninum* in a canine. Toxoplasmosis was associated with infection by the canine distemper virus in 62.5% of the dogs and in one cat (50%) associated with the feline leukemia virus (Felv). The affected animals ranged from two months to nine years old. The canine with *N. caninum*-like was elderly, had leishmaniasis as comorbidity and clinically presented convulsion, apathy and hyporexia and microscopically granulomatous meningoencephalitis, gliosis, foci of necrosis and parasitic structures in the neuropil, in the cytoplasm of neurons and in macrophages. Animals with toxoplasmosis had non-suppurative encephalitis, with foci of necrosis and gliosis, with intralésional tachyzoites and cysts. The diagnosis of toxoplasmosis was made based on microscopic lesions, parasite morphology and positive immunohistochemical (IHQ) staining only for *T. gondii*. The diagnosis of the *N. caninum*-like protozoan was due to strong IHC staining for *N. caninum* and negative for *T. gondii*, however this agent is not described parasitizing macrophages, as observed in this case. Immunosuppression was considered in both animal species as the determining factor for parasite reactivation.

Key words: Granulomatous meningoencephalitis, Neuropathology, *Neospora caninum*-like, *Toxoplasma gondii*.

RESUMO: Este estudo descreve a frequência e os aspectos patológicos da toxoplasmose em dezesseis cães e em dois felinos e a infecção por protozoário semelhante ao *Neospora caninum* (*N. caninum*-like) em um canino. A toxoplasmose ocorreu associada à infecção pelo vírus da cinomose canina em 62,5% dos cães e em um gato (50%) associado ao vírus da leucemia felina (Felv). Os animais acometidos apresentaram de dois meses a nove anos de idade. O canino com o *N. caninum*-like era idoso, tinha como comorbidade leishmaniose e apresentou clinicamente convulsão, apatia e hiporexia e microscopicamente meningoencefalite granulomatosa, gliose, focos de necrose e estruturas parasitárias no neurópilo, no citoplasma de neurônios e em macrófagos. Os animais com toxoplasma apresentaram encefalite não supurativa, com focos de necrose e gliose, com taquizoítos e cistos intralésionais. O diagnóstico de toxoplasmose foi realizado pelas lesões microscópicas,

morfologia do parasito e pela marcação imuno-histoquímica positiva somente para *T. gondii*. O diagnóstico do *N. caninum*-like foi devido a forte marcação IHQ para o anticorpo anti-*N. caninum* e negativo para *T. gondii*, porém este agente não é descrito parasitando macrófagos, como o observado neste caso. A imunossupressão foi considerada em ambas as espécies animais como o fator determinante para a reativação parasitária.

Palavras-chave: Meningoencefalite granulomatosa, Neuropatologia, *Neospora caninum*-like, *Toxoplasma gondii*.

INTRODUÇÃO

Protozoários do filo Apicomplexa classificados na família Sarcocystidae são coccídeos obrigatórios e/ou facultativos que se caracterizam por apresentar uma fase de desenvolvimento sexual no intestino do hospedeiro definitivo e formação de cistos em vários tecidos do hospedeiro intermediário (TENTER, et al. 1997). Protozoários dos gêneros *Toxoplasma*, *Sarcocystis* e *Neospora* podem causar encefalites com manifestações clínicas em cães (DUBEY et al., 2006).

A toxoplasmose é causada pelo *Toxoplasma gondii*, um parasita do filo Apicomplexa, pertencente ao Reino Protista (GALVÃO, 2014). Os felídeos são os únicos hospedeiros definitivos, nos quais ocorre o ciclo completo do parasito, incluindo a formação de oocistos (GALVÃO, 2014). Já os animais de sangue quente, incluindo os humanos, atuam como hospedeiros intermediários (HILL et al., 2005).

A transmissão do *T. gondii* ocorre principalmente pela ingestão de cistos presentes em carne crua ou malcozida, pelo consumo de alimentos e água contaminados com oocistos esporulados, ou pela infecção congênita de taquizoítos (DUBEY, 1996). Os cães podem veicular oocistos do *T. gondii* ao ingerir fezes de gatos contaminadas ou ao ter contato com elas, carregando os oocistos em sua pelagem (LINDSAY et al., 1997).

A neosporose é causada pelo *N. caninum*, que foi inicialmente identificada em filhotes da raça Boxer, na Noruega, apresentando sinais clínicos de meningoencefalite e miosite, semelhantes aos causados pelo *T. gondii* (DUBEY et al., 1988), além disso, pode ocorrer polirradiculoneurite e ganglioneurite (DUBEY & LAPPIN 2006). Em felinos não há relatos de ocorrência espontânea da doença, mas a infecção já foi reproduzida experimentalmente (DUBEY, 2003). Cadelas naturalmente infectadas podem transmitir por via transplacentária o *N. caninum* para sua ninhada (Dubey, 1998).

O *Toxoplasma gondii* e *N. caninum* podem se replicar em vários tecidos, entre eles sistema nervoso central, pulmões, fígado, musculo esquelético (DUBEY, 2006, DUBEY,

2003), e coração no caso do *N. caninum* (DUBEY, 2003). Embora muitos animais de estimação apresentem sorologia positiva para toxoplasmose, apenas alguns desenvolvem sinais clínicos da doença (DUBEY, 2006). Isso sugere que a manifestação clínica da doença ocorre devido a uma deficiência na imunidade do hospedeiro, resultando na possibilidade de infecção primária ou recorrente em pacientes imunocomprometidos. A toxoplasmose pode também levar ao aborto e alterações congênitas em várias espécies (TENTER, 2000).

Tanto o *T. gondii* como o *N. caninum* podem cursar com encefalite não supurativa, focos de necrose, gliose associadas a estruturas parasitárias, assim como lesões sistêmicas (Dubey et al., 2006), porém na neosporose meningoencefalite granulomatosa também pode ocorrer (PETERS et al., 2000, COSTA et al., 2014).

Sarcocystis neurona tem sido associado a meningoencefalite em cães (DUBEY et al., 2006) e gatos (DUBEY et al. 2003). As lesões da doença se caracterizam pela infiltração de macrófagos, neutrófilos, linfócitos, ocasionalmente eosinófilos e pequenos vasos sanguíneos com células endoteliais hipertrofiadas circundando essas regiões (COOLEY, 2007). Os protozoários costumam ser numerosos e geralmente ocorrem dentro de áreas de inflamação podendo ser encontrados no interior de neurônios, de células da glia, células epiteliais ou livres no parênquima (DUBEY et al., 2003; DUBEY et al., 2006); ocasionalmente, esquizontes podem ser identificados na periferia dos focos de inflamação. Os esquizontes consistem em aglomerados de protozoários ovais a ligeiramente alongados ou em forma de foice, com aproximadamente 3 por 2 μm (COOLEY, 2007). Alguns esquizontes formam rosetas distintas, com merozoítos arranjados radialmente ao redor de material granular acelular central. Os organismos são marcados intensamente tanto com anticorpos policlonais quanto monoclonais para *S. neurona*. Não havendo marcação positiva com anticorpos para *T. gondii* ou *N. caninum* (COOLEY,2007).

O diagnóstico destes parasitos pode ser realizado pelas lesões microscópicas associadas a técnica de IHQ que permite a detecção do parasita através da marcação de antígenos específicos presentes nas amostras histológicas (NAKAGAKI et al., 2017; MESQUITA et al., 2018, COOLEY,2007) ou a reação em cadeia da polimerase (PCR), que permite a detecção do material genético do parasito (BRESCIANI et al., 2013, NAKAGAKI et al., 2017, HAMMERSCHMITT et al., 2020), uma vez que estes são semelhantes morfológicamente (DUBEY et al., 1988). O objetivo deste estudo é descrever a frequência e os aspectos patológicos das doenças causadas por parasitos da família Sarcocystidae diagnosticados em cães e gatos da mesorregião do Campo das Vertentes de Minas Gerais.

MATERIAL E METODOS

As amostras utilizadas neste estudo são provenientes de um estudo retrospectivo de 17 anos (2005-2022) em animais de companhia recebidos para necropsia e histopatologia no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Lavras. Além da casuística, foram levantados dados sobre espécie afetada, sexo, idade, raça, manifestações clínicas, comorbidades e localização das lesões no sistema nervoso central (SNC). Nos caninos e felinos encaminhados para necropsia no período experimental, fragmentos de SNC e demais tecidos foram coletados em formalina tamponada a 10% e processados rotineiramente para a histopatologia. Amostras de SNC e demais tecidos que apresentaram lesões compatíveis ou a presença dos parasitos na histopatologia foram submetidos a marcação imuno-histoquímica com o anticorpo primário policlonal anti-*N.-caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* (VRMD, Pullman, USA), na diluição de 1:2000. A recuperação antigênica foi realizada pela digestão enzimática com tripsina 0,1% (pH 7,8) por 10 minutos a 37 °C, seguida da recuperação pelo calor por dois minutos em tampão citrato (pH 6,0). A revelação da reação foi realizada com o cromógeno DAB (3,3 –diaminobenzidina, DAKO), conforme descrito por MESQUITA et al. (2018). Como controle negativo o anticorpo primário foi substituído por soro fetal bovino e como controle positivo foram utilizadas amostras de SNC de animais sabidamente positivos para estes protozoários.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste período de 17 anos foram realizadas 2.626 necropsias de cães e 539 de gatos. Dezesesseis caninos e dois gatos tiveram o diagnóstico de toxoplasmose, sendo em 17 animais com acometimento do SNC. Um canino foi diagnosticado *N. caninum*-like. A resenha dos animais, comorbidades e sinal clínico nos felinos e caninos estão descritos nos quadros 1 e 2, respectivamente.

Quadro 1. Toxoplasmose em felinos, casos diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária no período de 2005-2022.

Caso/ Raça	Idade	Comorbidade	Sinais clínicos
1, SRD	7 anos	FeLV/linfoma	Não informado
2, SRD	2 meses	Não identificada	Associados a pneumonia

Quadro 2. Toxoplasmose e *N. caninum*-like (*) em cães, resenha do animal, comorbidade e sinais clínicos.

Caso/ Raça	Idade	Comorbidades	Sinais Clínicos
1, SRD	3 anos	Cinomose	Incoordenação, pedalagem, consciência alterada e <i>Head Turn</i>
2, Teckel	7 anos	Cinomose	Não informado
3, NI	N/I	Não Identificada	Não informados
4, Poodle	N/I	Não identificada	Movimentos de pedalagem, vocalização, headpressing, pleurostótono, cabeça baixa, andar em círculos e compulsivo, ataxia, reflexo corneano e de deglutição diminuídos, reflexo extensor cruzado presente.
5, Basset Hound	1 ano	Erliquiose	Prostração, anorexia, desidratação e mucosas esbranquiçadas.
6, SRD	1 ano	Cinomose	Convulsões.
7, SRD	5 anos	Cinomose	Ataxia e paresia de membro pélvico direito.
8, SRD	8 anos	Cinomose	Dispneia e mioclonia de músculos mastigatórios.
9, SRD	1 ano	Cinomose	Tosse não produtiva e hiporexia, corrimento nasal mucopurulento.
10, SRD	3 anos	Cinomose	Secreção nasal, ocular, prostração e hiporexia, convulsões
11, Fox Hound	7 anos	Cinomose	Hipertermia, inanição, dispneia
12, SRD	2 meses	Cinomose	Anorexia, secreção ocular, espasmos, dispnéia e tosse.
13, Labrador	2 anos	Complicação pós cirurgia	Apatia
14, SRD	7 anos	Erliquiose	Icterícia, petéquias pelo corpo, hipotensão.
15, SRD	9 anos	IRC	Paralisia de membros, diarreia escura, vômito e dor.
16, SRD	5 meses	Cinomose	Dispnéia, secreção nasal purulenta e ocular, febre
17, Cocker*	idoso	Leishmaniose	convulsão, apatia e hiporexia

NI: não informada, IRC: Insuficiência renal crônica, SRD: sem raça definida,

**Neospora-Like*

As lesões microscópicas dos caninos com toxoplasmose foram semelhantes, variando somente na intensidade. Todos os caninos apresentaram encefalite linfoplasmocitária, sendo no canino 11, associada a infiltrado neutrofilico. As demais lesões foram malácia e/ou necrose moderada a acentuada (75%), gliose discreta a moderada (37,5%) e hemorragia multifocal moderada a acentuada (18,75%), associados a cistos (87,5%) ou taquizoítos (50%) de *Toxoplasma gondii*. O córtex cerebral foi o local mais afetado pelas lesões parasitárias (75%), seguido do cerebelo (37,5%), tronco cerebral (25%) e tálamo (12,5%). As meninges foram envolvidas em cinco caninos (31,25%). Infecção por *T. gondii* fora do SNC ocorreu nos pulmões nos caninos 9, 14 e 16, associado a pneumonia intersticial com necrose multifocal, sendo que, no canino 16 havia ainda infiltrado neutrofilico. Somente no canino 9 ocorreu necrose hepática multifocal associada a presença do parasito. A marcação IHQ foi positiva somente para *T. gondii* em todos os animais. Os caninos com cinomose apresentaram adicionalmente desmielinização e corpúsculos de inclusão intranuclear em astrócitos.

Nos gatos com toxoplasmose, um deles apresentou em região do telencéfalo encefalite linfoplasmocitária multifocal acentuada associada a grande quantidade de taquizoítos de *T. gondii*. O segundo gato apresentou infiltrado linfoplasmocitário e neutrofilico difuso acentuado nos pulmões, com macrófagos alveolares associados a taquizoítos de *T. gondii*. A marcação IHQ foi positiva somente para *T. gondii* em ambos os gatos.

No canino com protozoário semelhante ao *N. caninum* foi observado nas leptomeninges e parênquima dos hemisférios cerebrais (Fig. 2 A e B), acentuado infiltrado inflamatório de macrófagos e poucos linfócitos, sendo que nas meninges havia células gigantes binucleadas ou multinucleadas, com estruturas parasitárias fagocitadas e livres no exsudato (Fig. 3 A e B). Também havia áreas multifocais de gliose, necrose discreta e estruturas parasitárias no citoplasma de neurônios. A marcação imuno-histoquímica foi fortemente positiva somente a para *Neospora caninum* (Figura 4 A e B). No baço e esfregaço de medula óssea foi observado infiltrado de macrófagos multifocal moderada, alguns contendo estruturas compatíveis com formas amastigotas de *Leishmania* sp.

Segundo Dubey e Lappin (1998), a associação entre cinomose e toxoplasmose ocorre na maioria dos casos clínicos. A cinomose ao causar imunossupressão, favorece a reativação dos parasitas em fase de latência (SWINGER, 2009). No presente estudo dos 18 animais com toxoplasmose, em 15 (83,3%) foram identificadas alguma comorbidade possivelmente responsável pelo quadro imunossupressor, que certamente favoreceu a ação patogênica de *T. gondii* (TENDER, 2000).

No canino com *N. caninum*-like também houve associação com um agente imunossupressor, a *Leishmania* sp, agente este já observado em coinfeções com *N. caninum* (CRINGOLI et al., 2002, TARANTINO et al., 2001). O cão acometido era idoso, o que difere do frequentemente descrito na literatura, onde os animais afetados pela neosporose geralmente são filhotes (PETERS et al., 2000, DUBEY et al., 2003, DUBEY et al., 1988). As lesões no SNC associados a neosporose geralmente cursam com encefalite não supurativa, associada a focos de gliose e necrose, com estruturas parasitárias livres ou dentro de neurônios (DUBEY et al., 2003), porém encefalite granulomatosa também foi descrito em caninos (PETERS et al., 2000) e caprinos com células gigantes multinucleadas (COSTA et al., 2014).

Neste caso foi considerado no diagnóstico diferencial o *Sarcocystis neurona*, o qual pode levar a meningoencefalite associada a necrose com infiltrado de macrófagos, neutrófilos e linfócitos (COOLEY, 2007). Os organismos protozoários costumam ser numerosos e geralmente ocorrem no interior de neurônios, de células da glia, células epiteliais ou no parênquima associados a inflamação (DUBEY, 2006). Alguns esquizontes formam rosetas distintas, com merozoítos arranjados radialmente ao redor de material granular acelular central (COOLEY, 2007, HAMMERSCHMITT et al., 2020). Além disso *Sarcocystis* formam esquizontes no endotélio vascular (DUBEY, 2003). Os organismos se coram intensamente tanto com anticorpos policlonais quanto monoclonais para *S. neurona* (COOLEY, 2007). Não havendo marcação positiva com anticorpos para *T. gondii* ou *N. caninum* (COOLEY, 2007, HAMMERSCHMITT et al., 2020). No caso aqui descrito, a ausência de rosetas e a marcação IHQ positiva com o anticorpo anti-*N. caninum* sugerem o diagnóstico de *N. caninum*-like, porém esse agente não foi visualizado dentro de macrófagos e células gigantes multinucleadas. Provas moleculares serão realizadas para auxiliar na confirmação do diagnóstico.

CONCLUSÃO

Os resultados do estudo demonstram que em animais com doenças imunossupressoras e com sinais clínicos neurológicos deve ser considerada a coinfeção por parasitos da família *Sarcocystidae*.

AGRADECIMENTOS

Para Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil – (Codigo 001) pela bolsa de mestrado e a Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de Minas

Gerais pelo suporte financeiro (Processo APQ – 01699-22), bolsas de mestrado e de Iniciação Científica.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

Não há conflitos de interesse.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram de forma equalitária para o manuscrito.

REFERÊNCIAS

- COOLEY, A. J. et al. *Sarcocystis neurona* Encephalitis in a Dog. *Veterinary Pathology*. v. 44, p. 956–961, 2007.
- COSTA, R.C. et al. Histopathological and immunohistochemical characterization of the inflammatory and glial cells in the central nervous system of goat fetuses and adult male goats naturally infected with *Neospora caninum*. *BMC Veterinary Research*., v.10, p.291-7.2014
- CRINGOLI, G. et al. Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 106, p.307-13. 2002.
- DUBEY, J.P., CHAPMAN, J.L., ROSENTHAL, B.M. MENSE, M., SCHULER, R.L., Clinical *Sarcocystis neurona*, *Sarcocystis canis*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 137, p. 36-39. 2006
- DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R. Toxoplasmosis and neosporosis. In: GREENE, C. E. *Infectious diseases of the dog and cat*. 3. ed. St. Louis: Elsevier, p. 754-775, 2006.
- DUBEY, J.P. et al. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean Journal Parasitology* v.41, p.1-16, 2003.
- DUBEY, J.P. et al. Clinical *Sarcocystis neurona* encephalomyelitis in a domestic cat following routine surgery. *Veterinary Parasitology*, v. 112, p. 261-267, 2003.
- DUBEY, J.P., et al. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*.v. 192, n.9, p. 1269-1285. 1988.
- DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*., v. 67, p.1-59, 1996.
- GALVÃO, A. et al. Aspectos da toxoplasmose em pequenos animais. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 35. n 1 p. 393-410. 2014.
- GONDIM, L.F.P.; et.al. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 134, p. 33-39, 2005.

- HILL, D. E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J. P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Animal Health Research Reviews*. v. 6, p. 41-61, 2005.
- LINDSAY, D. S., et al. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 73, n. 1-2, p. 27-33, 1997.
- MESQUITA, L.P. et al. Placental lesions associated with abortion and stillbirth in goats naturally infected by *Neospora caninum*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.38, p.444 - 449, 2018.
- NAKAGAKI, K. Y. R., et al. Lesions and distribution of *Neospora caninum* in tissues of naturally infected female goats. *Small ruminant research*, v.140, p.57 - 62, 2016.
- PETERS, M. et. al. Canine neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany. *Parasitology Research* 86: 1–7, 2000.
- SWINGER, R. L et. al. Keratoconjunctivitis associated with *Toxoplasma gondii* in a dog. *Veterinary Ophthalmology*. v. 12, n. 1, p. 56-60, 2009.
- TARANTINO, C. et al. *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* simultaneous skin infection in a young dog in Italy. *Veterinary Parasitology*, v. 102m p.77-83, 2001.
- TENTER, A. M., et al. Phylogeny of the tissue cyst-forming coccidia. *Advances in Parasitology*. 39:69-139, 1997.
- TENTER, A. M., et al. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*; New York, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

Figuras

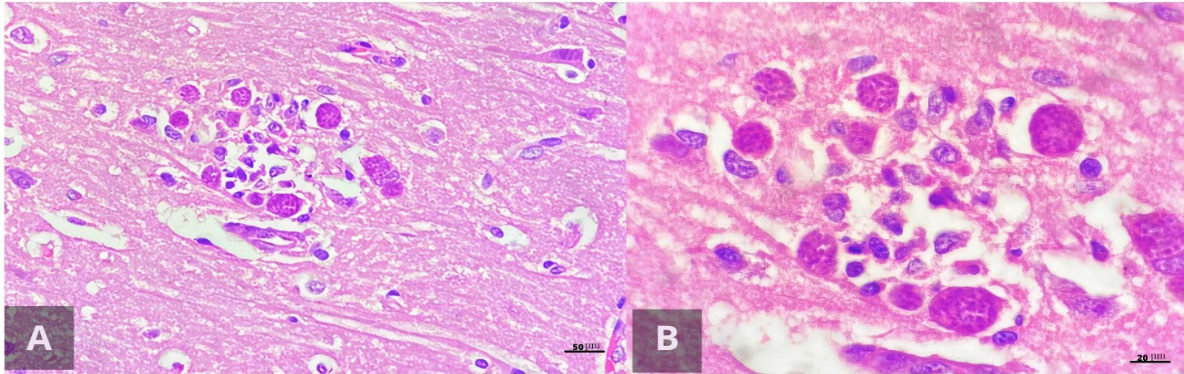


Figura 1. Toxoplasmose Cerebral. (A-B). Canino 11. Área focal do encéfalo com cistos de *Toxoplasma gondii*, H.E., Barra 50 μm e 20 μm .

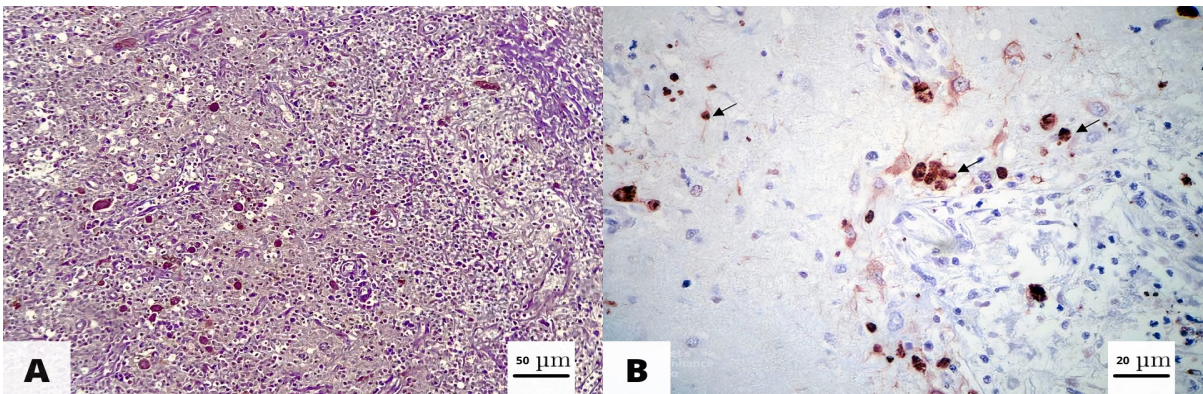


Figura 2. Canino 11. A. Encefalite multifocal acentuada com gliose e cistos de *T. gondii* no parênquima cerebral marcados pela IHQ, Barra 50 μm . B. Canino 16. Gliose focal e IHQ positiva anti-*T. gondii*, Barra 20 μm .

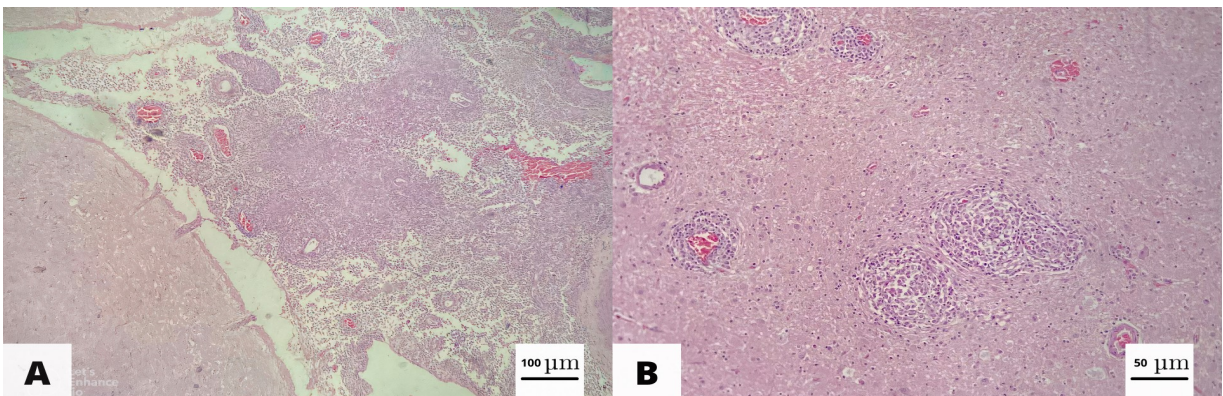


Figura 3 –*Neospora caninum*-like em cão. SNC: (A) Leptomeninges e (B) parênquima dos hemisférios cerebrais com acentuado infiltrado inflamatório granulomatoso predominantemente perivascular, H.E. Barra 100 μm e 50 μm .

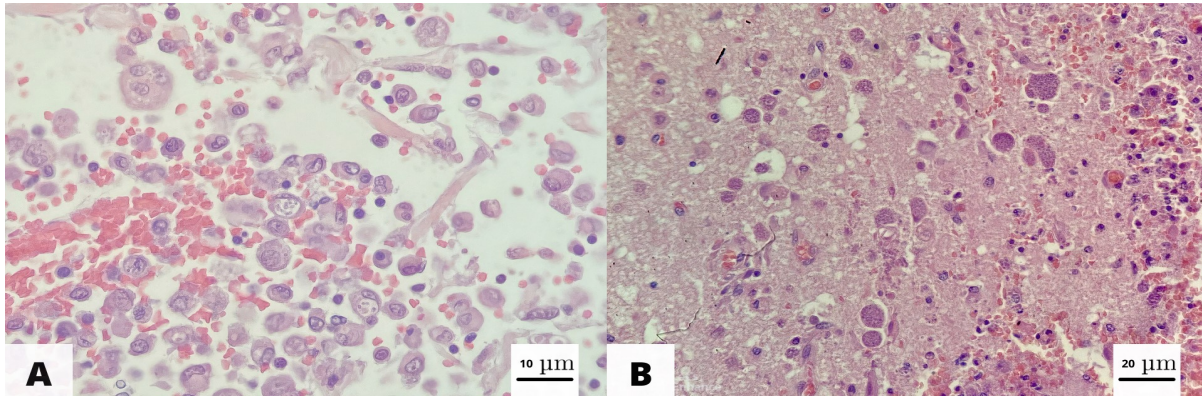


Fig. 4 *Neospora caninum*-like em cão. A. Cortex cerebral. Infiltrado granulomatoso com estruturas parasitárias dentro de células multinucleadas nas leptomeninges. H.E., Barra 10 μm. B. Cistos no parênquima, H.E., Barra 20 μm.

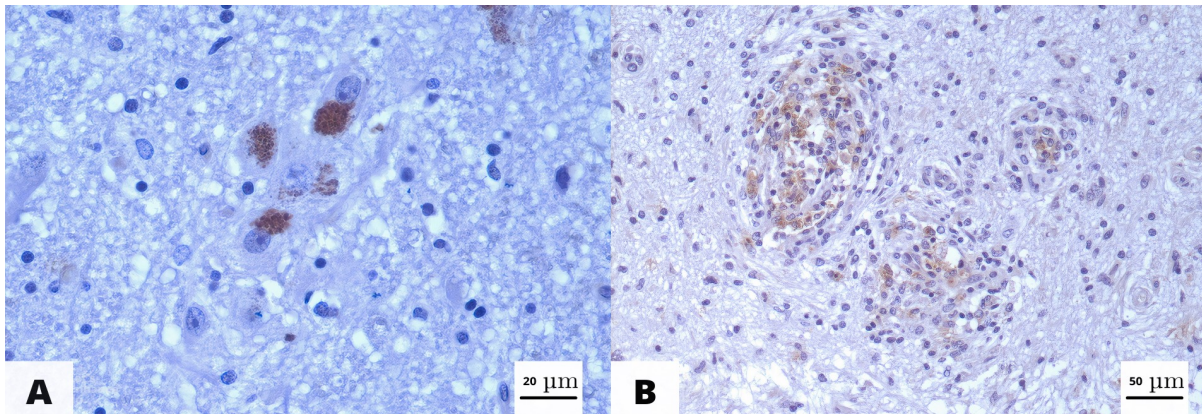


Figura 5 *Neospora caninum*-like em cão. Estruturas parasitárias marcadas pela IHQ para *N. caninum* no citoplasma de neurônios, Barra 20 μm (A) e em macrófagos perivascularares, Barra 50μm.

ARTIGO 3 - Doenças fúngicas neurotrópicas em animais de companhia

Trabalho escrito conforme as normas do periódico Ciência Rural – Qualis A4

Doenças fúngicas neurotrópicas em animais de companhia
Neurotropic fungal diseases in companion animals

ABSTRACT: Fungal infections in the central nervous system (CNS) of dogs and cats represent a significant clinical challenge. This study describes the frequency and pathological aspects of neurotropic fungi, such as *Cryptococcus* sp, and dematiaceous fungi (phaeohyphomycosis) in companion animals diagnosed by the Department of Veterinary Pathology at UFLA. In this period of 17 years, 2,626 dogs, 539 cats, 8 gerbils and 10 guinea pig were necropsied. The results showed 13 cases of cryptococcosis (0.41%), affecting two gerbils, one guinea pig, four cats and six dogs and two cases of phaeohyphomycosis (0.06%) in canines. Cerebral cryptococcosis occurred in three dogs and one cat and pheohyphomycosis in two dogs. Macroscopic lesions in cryptococcosis were thickened leptomeninges, with flattening of the gyrus and yellowish translucent swelling on the surface of the cerebral hemispheres. When cut with foci of malaceae and evident gelatinous material. Microscopically, the leptomeninges were markedly thickened with a large number of round to ovoid yeast structures, with a thick capsule and not stained by hematoxylin and eosin, associated with a discreet mononuclear inflammatory infiltrate. In pheohyphomycosis, macroscopically, gray-yellowish, asymmetric and depressed areas were observed in the parenchyma. Microscopically, there were extensive areas of necrosis, associated with a pyogranulomatous infiltrate with intralesional dematiaceous fungal structures. The diagnosis was based on macroscopic and microscopic lesions and histochemical staining, demonstrating that fungal encephalitis should be considered in the diagnosis of animals with nervous symptoms, mainly due to *Cryptococcus* sp.

Key words: *Cryptococcus* sp., pheohyphomycosis, dematiaceous fungi, fungal encephalitis.

RESUMO: As infecções fúngicas no sistema nervoso central (SNC) de cães e gatos representam um desafio clínico significativo. Este estudo descreve a frequência e os aspectos patológicos de fungos neurotrópicos, como *Cryptococcus* sp e fungos dematiáceos (feohifomicose) em animais de companhia diagnosticados pelo Setor de Patologia Veterinária da UFLA. Neste período de 17 anos foram necropsiados 2.626 cães, 539 gatos, 8 gerbis e 10 porquinhos da Índia. Os resultados demonstraram 13 casos de criptococose (0,41%), afetando dois gerbis, um porquinho da Índia, quatro gatos e seis cães e dois casos de feo-hifomicose (0,06%) em caninos. A criptococose cerebral ocorreu em três cães e um gato e a Feo-hifomicose em dois cães. As lesões macroscópicas na criptococose foram leptomeninges

espessadas, com achatamento dos giros e aumento de volume translúcido amarelado na superfície hemisférios cerebrais. Ao corte com focos de malácea e material gelatinoso evidente. Microscopicamente leptomeninges acentuadamente espessadas com grande quantidade de estruturas leveduriformes arredondadas a ovaladas, de cápsula espessa e não corada pela hematoxilina e eosina, associadas a discreto infiltrado inflamatório mononuclear. Na feo-hifomicose macroscopicamente observou-se áreas cinza-amareladas, assimétricas e deprimidas no parênquima. Microscopicamente havia extensas áreas de necrose, associadas a infiltrado piogranulomatoso com estruturas fúngicas dematiáceas intralesionais. O diagnóstico foi baseado nas lesões macroscópicas, microscópicas e em colorações histoquímicas, demonstrando que as encefalites fúngicas devem ser consideradas no diagnóstico de animais com sintomatologia nervosa, principalmente por *Cryptococcus* sp.

Palavras-chave: *Cryptococcus* sp., feo-hifomicose, fungos dematiáceos, encefalite fúngica.

INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas no sistema nervoso central (SNC), causadas por uma variedade de fungos (SHERDING, 2008), podem ocorrer de forma primária, quando o fungo invade diretamente o SNC, ou de forma secundária, quando este se espalha a partir de uma infecção em outro órgão (PAPPALARDO & MELHEM, 2003).

A criptococose é uma infecção fúngica sistêmica de importância global, sendo mais comum em gatos (BARBRY 2019), mas também pode afetar cães, cavalos e bovinos (TABOADA, 2010). Embora a criptococose não seja considerada uma doença zoonótica, casos em humanos e animais podem resultar de uma fonte ambiental comum (GALIZA, 2014).

O agente causador dessa infecção é o *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii*, que são duas espécies de leveduras saprófitas que se reproduzem por brotamento. Esses microrganismos são pequenos, com um diâmetro de 1 a 7µm, e geralmente são cercados por uma cápsula mucoide composta por polissacarídeos, com dimensões que variam de 1 a 30 µm (TABOADA, 2010). O *Cryptococcus neoformans*, considerado mais patogênico em indivíduos imunocomprometidos (PAPPALARDO & MELHEM, 2003), é frequentemente encontrado em excretas de aves, especialmente pombos urbanos, devido à alta concentração de nitrogênio proveniente da creatinina, que favorece sua proliferação (TABOADA, 2010). Por outro lado, o *Cryptococcus gattii* é predominante em climas tropicais e pode afetar tanto

hospedeiros imunossuprimidos quanto indivíduos imunocompetentes (PAPPALARDO & MELHEM, 2003).

A criptococose em felinos, pode ocorrer associada a infecção pelo vírus da imunodeficiência felina (FIV) ou o vírus da leucemia felina (FeLV) (ZACHARY, 2013). Em cães, sua ocorrência está relacionada a terapia prolongada com glicocorticoides, infecção por *Erlichia canis*, neoplasias, *diabetes mellitus*, má nutrição, entre outros (MARCASSO et al., 2005).

A infecção por *Cryptococcus* geralmente ocorre pela inalação de leveduras fúngicas presentes no ar, que se alojam nos tecidos nasal, paranasais e pulmonares antes de se disseminar por via hematogena (BUCHANAN, 2019). Os sinais clínicos da criptococose dependem dos sistemas orgânicos afetados, sendo que em 80% dos gatos e 50% dos cães ocorrem sinais de infecção crônica do trato respiratório superior (SHERDING, 2008).

O termo "feo-hifomicose" é utilizado para descrever micoses oportunistas em humanos e animais causadas por fungos dematiáceos, filamentosos, que possuem melanina na estrutura da parede celular (UCHÔA, 2012). A etiologia dessa condição é composta por uma ampla variedade de fungos, que em caninos, destacam-se *Scopulariopsis chartarum*, *Cladophialophora bantiana*, *Ochroconis gallopavum*, *Exophiala* sp., e *Cladosporium cladosporioides* (UCHÔA, 2012). A forma clínica mais comum das feo-hifomicoses é caracterizada por lesões localizadas na pele e/ou tecido subcutâneo (CHERMETTE, 1997). A origem da infecção sistêmica ainda não é clara. Suspeita-se que lesões cutâneas recorrentes seja a principal porta de entrada, juntamente com o estado de imunossupressão, uma vez que os fungos dematiáceos são oportunistas (CALIGIORNE et al. 2010).

Nem sempre as infecções micóticas apresentam alterações clínicas e lesões macroscópicas características, desta forma, o diagnóstico definitivo pode ser realizado pela cultura micológica (técnica padrão-ouro), pelas características histomorfológicas e histoquímicas (GALIZA, 2014) e por técnicas moleculares (LEAL, 2008).

MATERIAL E METODOS

As amostras utilizadas neste estudo são provenientes de 17 anos (2005-2022) de casos diagnosticados no Setor de Patologia Veterinária. Além da casuística, foram levantados dados sobre espécie afetada, sexo, idade, raça, manifestações clínicas, comorbidades e localização das lesões no sistema nervoso central (SNC) e sistêmica. Nos animais de companhia encaminhados para necropsia no período experimental, fragmentos de SNC e demais tecidos

foram coletados em formalina tamponada a 10% e processados rotineiramente para a histopatologia. Amostras de SNC e demais tecidos que apresentaram lesões compatíveis ou a presença de fungos foram submetidos a colorações histoquímicas de Prata Metenamina de Grocott, Ácido Periódico de Schiff (PAS) e Mucicarmim.

RESULTADOS

Neste período de 17 anos (2005 até agosto de 2022), foram necropsiados 2.626 cães, 539 gatos, 8 gerbis (*Meriones unguiculatus*) e 10 porquinhos da índia (*Cavia porcellus*), ocorrendo 15 casos de doenças fúngicas neurotrópicas, sendo 13 de criptococose (0,41%), acometendo dois gerbis, um porquinho da Índia, quatro gatos e seis cães; e dois casos de feo-hifomicose (0,06%) em caninos. Ocorrendo o envolvimento do SNC em seis casos (46,15%) sendo quatro criptococose (26,6%) e dois feo-hifomicose (13,33%). Três caninos e um felino foram diagnosticados com criptococose cerebral. A resenha dos animais com criptococose e sinais clínicos estão demonstrados no Quadro 1.

Quadro 1 – Criptococose em animais de companhia. Resenha e sinais clínicos

Espécie	Idade/sexo	Raça	Sinal clínico/localização da lesão
Felino	3 anos, macho castrado	SRD	Midríase bilateral, nistagmo, cegueira, ataxia, convulsão e polifagia/Córtex cerebral
Felino	2 anos, fêmea castrada	SRD	Aumento de volume em focinho/Pele pilosa e subcutâneo
Felino	2 anos, fêmea	SRD	Lesão ulcerada no plano nasal, com aumento de volume/ Pele pilosa e subcutâneo
Felino	2 ano, macho	SRD	Lesão ulcerada no plano nasal e pina de orelha/Pele pilosa e subcutâneo
Canino	2 anos, Macho	SRD	Fraqueza, cambaleamento, hiporexia, dificuldade respiratória e crepitação pulmonar/ Pulmão, cerebelo e córtex cerebral
Canino	10 anos, macho	SRD	Linfadenomegalia, dispnéia e anemia/ Pulmão, rim e linfonodo
Canino	adulto, Macho	SRD	Anorexia, apatia, alteração de consciência, diarreia/Córtex cerebral
Canino	2 anos, Fêmea	Pastor Alemão	Não informado/ Nódulos Mesentério
Canino	9 anos, fêmea castrada	SRD	Lesões ulceradas na Pele/Pele pilosa e subcutâneo
Canino	12 anos, macho	SRD	Aumento de volume em região mandibular direita, com secreção serosanguinolenta. Segundo nódulo em

			região de linfonodo submandibular direito SNC, Rim, fígado, pulmão e linfonodo
Gerbil	Adulto, fêmea	-	Apatia/Pulmão
Gerbil	Adulto, fêmea	-	Apatia/Pulmão
Porquinho da Índia	NI, fêmea	-	Nódulo na boca/Pele mucosa e submucosa

Macroscopicamente no encéfalo do felino com criptococose observou-se leptomeninge avermelhada, com aumento de volume translúcido amarelado na superfície do lobo frontal de 1,1 cm de diâmetro e em outras áreas do telencéfalo. Ao corte leptomeninges acentuadamente espessadas, com material de aspecto gelatinoso e na região de tronco encefálico área amolecida, cinza amarelada, bilateralmente acima dos colículos rostrais (Figura 1A). O cerebelo encontrava-se conificado. Os caninos apresentaram achatamento dos girus e em um deles hemorragia multifocal em leptomeninges.

Na microscopia do encéfalo as leptomeninges do cerebelo e córtex cerebral apresentavam-se muito espessadas com grande quantidade de estruturas leveduriformes arredondadas a ovoides, de cápsula espessa e não corada pelo H.E, lembrando aspecto de bolha de sabão (Figura 1B), onde em algumas áreas estas envolviam a substância cinzenta e no gato se estendiam à substância branca e ao plexo coroide. Em todos os animais havia discreto infiltrado inflamatório de linfócitos, plasmócitos e raros macrófagos, em meio às estruturas fúngicas, as quais foram positivas nas colorações histoquímicas pelo Ácido Periódico de Schiff (PAS) (Figura 1C) e sua capsula evidenciada pelo Mucicarmim (Figura 1D). Somente em um canino havia adicionalmente moderados manguitos perivasculares linfoplasmocitário, hemorragia focal acentuada nas leptomeninges, com infiltrado inflamatório de linfócitos e neutrófilos.

Macroscopicamente nos demais tecidos foi observado aumento de volume na região nasal (felinos) ou pele, ao corte com material viscoso amarelo-amarronzado no subcutâneo. Os que apresentaram lesões pulmonares, os lobos pulmonares com nódulos variando entre 1,0 e 2,0cm de diâmetro, firmes amarelados. Ao corte, preenchido por material viscoso relativamente translúcido. Córtex renal com nódulos multifocais de 0,1 a 0,9 cm de diâmetro, com superfície gelatinosa translúcida e amarelada ao corte; e linfadenomegalia em um animal.

Microscopicamente as lesões pulmonares foram discretas, associados a macrófagos espumosos na luz, raros linfócitos, em um animal com infiltrado neutrofilico, o qual também

foi visualizado no linfonodo e rim. Na pele e mesentério o exsudato foi piogranulomatoso de moderado a acentuado. Um gerbil e o porquinho da Índia não tinham inflamação associada. Em todos os casos foram visualizadas

Quadro 2 – Feo-hifomicose em caninos. Resenha e sinais clínicos

Sexo/Idade	Raça	Histórico. Sinal Clínico e localização da lesão
Macho, 8 anos	SRD	Tetraparesia, ausência de propriocepção nos quatro membros e sensibilidade superficial diminuída em membro torácico direito e membro pélvico esquerdo / encéfalo, rim, linfonodo, baço e coração
Macho, 11 anos	Golden Retriever	Dor, prostração, anorexia, mantinha-se deitado a maior parte do tempo. Exames de sangue e bioquímico com plaqueta baixa e ureia alta/ fígado e encéfalo

No primeiro canino foi observado esplenomegalia e nódulos esbranquiçados multifocais com aproximadamente 0,3 cm de diâmetro em cápsula e parênquima esplênicos e em córtex renal. No hemisfério cerebral e no cerebelo havia nódulos de 0,5 a 1,0 cm de diâmetro, de contorno irregular, centro friável e bordos avermelhados. No segundo cão havia nódulo de 1,5 cm em lobo medial direito do fígado, com cavitação central contendo líquido turvo e espesso. No hemisfério cerebral esquerdo (Figura 2) havia também nódulo de 1,5 cm de diâmetro, contorno irregular, porção central amolecida e periferia acinzentada.

Ao exame histopatológico de ambos os caninos foram observadas extensas áreas de necrose, associadas a infiltrado inflamatório composto por neutrófilos, linfócitos, macrófagos e células gigantes multinucleadas, com estruturas fúngicas dematiáceas (de parede acastanhada) (Figura 3A), septadas intralesionais em baço, rim, linfonodo, coração e encéfalo do canino 1 e em fígado e encéfalo do canino 2. Nos dois caninos a hifas foram coradas pela Metenamina de Prata de Grocott (Figura 3B).

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os sinais clínicos manifestados pelos animais com envolvimento do SNC que variaram de cegueira a dificuldade de locomoção são semelhantes aos observados por outros autores, que descrevem apatia, cegueira, ataxia, andar em círculos, paresia, paralisia e convulsões, que podem variar conforme a localização do fungo no SNC (TABOADA, 2010).

A morfologia do *Cryptococcus* observada nos animais do presente estudo é típica e caracterizada pela forma ovoide, esférica ou em “forma de taça” que ocasionalmente exibem um único brotamento, onde o conjunto de vários microrganismos com suas cápsulas espessas e não coradas pelo H.E. conferem ao tecido um aspecto de “bolhas de sabão”. Outro aspecto

frequente nos animais do estudo foi o discreto infiltrado inflamatório, tal achado é relacionado a cápsula polissacarídica do agente, que interfere na migração e resposta celular (ZACHARY, 2013).

O principal diagnóstico diferencial a ser considerado na forma cutânea da criptococose (principalmente em gatos) é a esporotricose (FERREIRO, 2007). Além do carcinoma de células escamosas e outras afecções que ocorrem no SNC, como encefalite viral, bacteriana, meningoenfalite por protozoário, meningoenfalite granulomatosa e neoplasias (MARCASSO et al., 2005), Que apresentam aspectos histopatológicos bastante distintos dos descritos nos animais do presente estudo.

Em relação aos casos de feo-hifomicose, ambos envolveram o SNC, sendo os achados semelhantes a feo-hifomicose sistêmica descrita em um cão com fungos no fígado, baço, rins, linfonodo hepático, testículo e cérebro. A suspeita principal é o agente etiológico seria o *C. bantiana*, por este ser neurotrópico (UCHÔA, 2012).

Os diagnósticos dos casos do presente estudo foram baseados nas lesões macroscópicas, microscópicas e em colorações histoquímicas, sendo que testes moleculares ainda serão realizados para a caracterização destes agentes. Os resultados demonstram que as encefalites fúngicas, principalmente por *Cryptococcus* sp, devem ser consideradas no diagnóstico diferencial de animais com sintomatologia nervosa.

AGRADECIMENTOS

Para Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil – (Codigo 001) pela bolsa de mestrado e a Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de Minas Gerais pelo suporte financeiro (Processo APQ – 01699-22), bolsas de mestrado e de Iniciação Científica. Ao Laboratório de Micologia Médica do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (Setor de Micologia/Coleção Cultura).

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

The authors declare no conflict of interest.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram de forma equalitária para o manuscrito.

REFERÊNCIAS

- BARBRY, J. B., et al. Cryptococcosis with ocular and central nervous system involvement in a 3 -year-old dog Clinical case reports, v, 7, n. 12, pp. 2349–2354, 2019.
- BUCHANAN, K.L, MURPHY, J.W. What makes *Cryptococcus neoformans* a pathogen Emerging Infectious Diseases., v. 4, n.1, p. 71-83. 1998.
- CALIGIORNE, R.B. et al. Fungos dematiáceos. Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, n.1, p.22-25, 2010.
- CHERMETTE R., et. al. *Exophiala spinifera* nasal infection in a cat and a literature review of feline phaeohyphomycoses. Journal de Mycologie Médicale. 7: 149-158,1997.
- GALIZA, G.J.N.; et al. Características histomorfológicas e histoquímicas determinantes no diagnóstico da criptococose em animais de companhia. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 34, n.3, p. 261-269, 2014.
- LEAL, A. L. et al. *Cryptococcus* species identification by multiplex PCR. Medical Mycology, 46, 377 383, 2008
- MARCASSO, R. A. et al. Criptococose no sistema nervosa de cães–relato de três casos. Londrina: Semina: Ciências Agrárias, v. 26, n. 2, p. 229-238, 2005.
- PAPPALARDO M.C.S.M. & MELHEM M.S.C. Cryptococcosis: A review of the Brazilian experience for the disease. Revista do Instituto de Medicina Tropical. 45(6):299-305. 2003.
- SHERDING, R. G. Micoses sistêmicas. In: BICHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Clínica de pequenos animais. Roca. cap. 20, p. 215-222, 2008.
- TABOADA, J, GROOTERS, A.M. Cryptococcosis In Ettinger SJ, Feldman EC, eds. Textbook of Veterinary Internal Medicine, 7th ed: Saunders Elsevier;988-992. 2010.
- UCHÔA, I.C.P., et al. Feo-hifomicose sistêmica em cão. Ciência Rural.; 42(4):670-674, 2012.
- ZACHARY, J. F.; McGAVIN, M. D. Bases da Patologia em Veterinária. 6ed. Elsevier. p. 1324 , 2013.

Figuras e Legendas

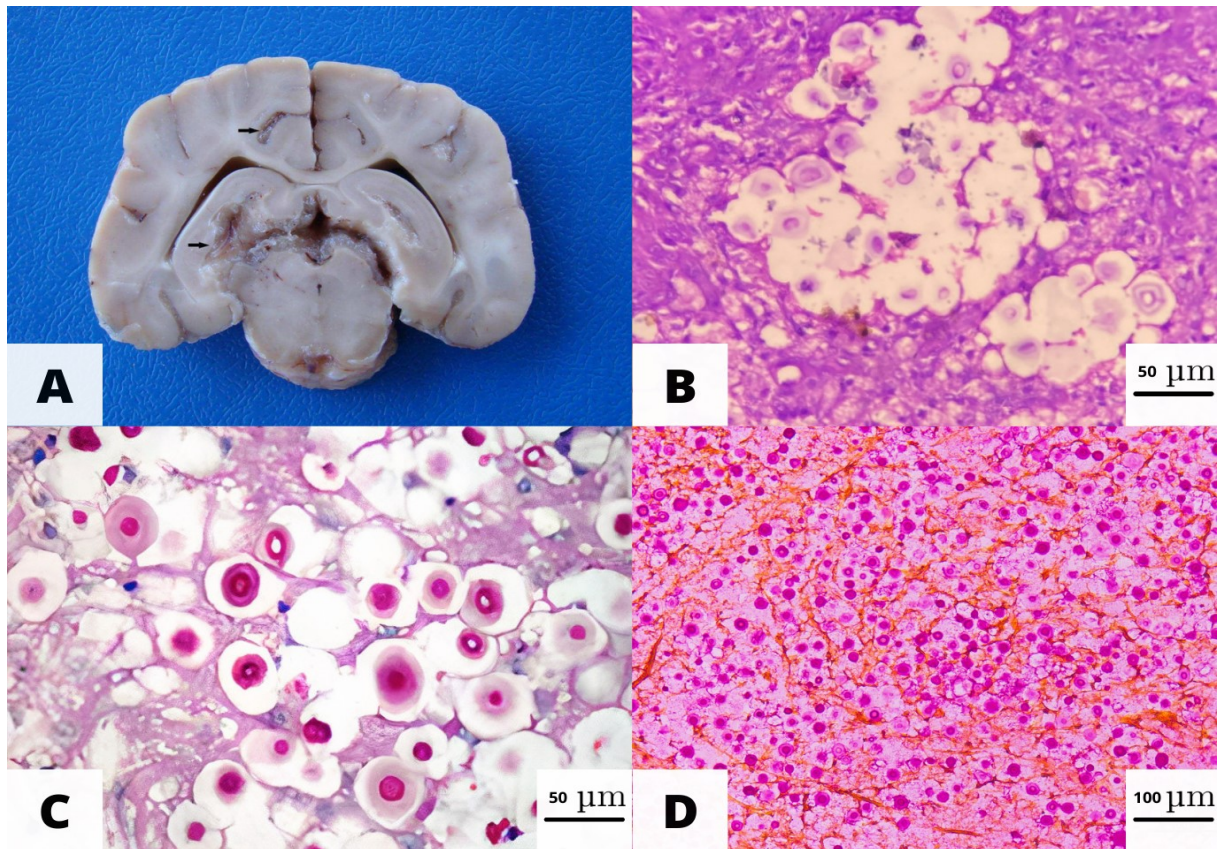


Figura 1. Criptococose em animais de companhia (A) Gato. Cérebro com área amolecida e enegrecida bilateralmente acima dos colículos rostrais e região de córtex unilateral. (B) Gato. Estruturas leveduriformes no parênquima cerebral dando aspecto de bolha de sabão ao tecido, H.E., Barra 50µm. (C) *Cryptococcus* com célula central evidenciada pela coloração Ácido Periódico de Schiff, Barra 50µm e (D) com capsula corada pela coloração Mucicarmim, Barra 100 µm.

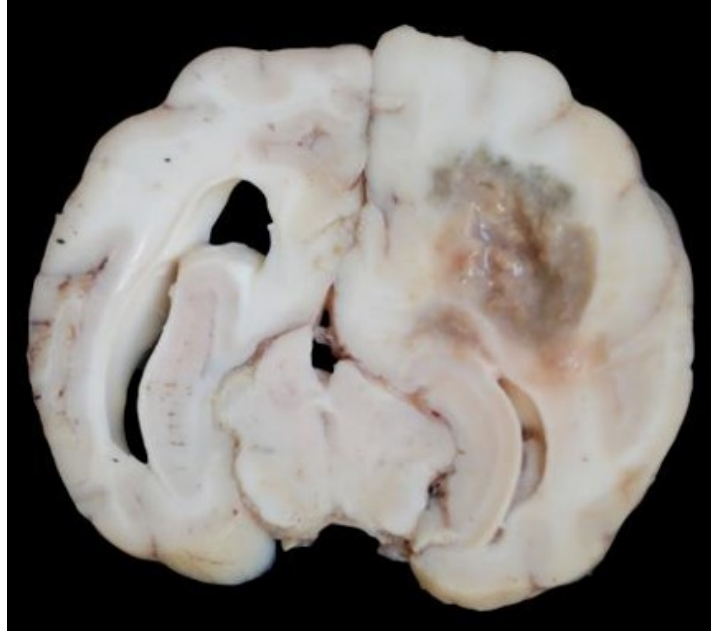


Figura 2. Feo-hifomicose em cão. Canino 2. Encéfalo com lesão, deprimida, cinza amarelada e assimétrica em região de córtex cerebral.

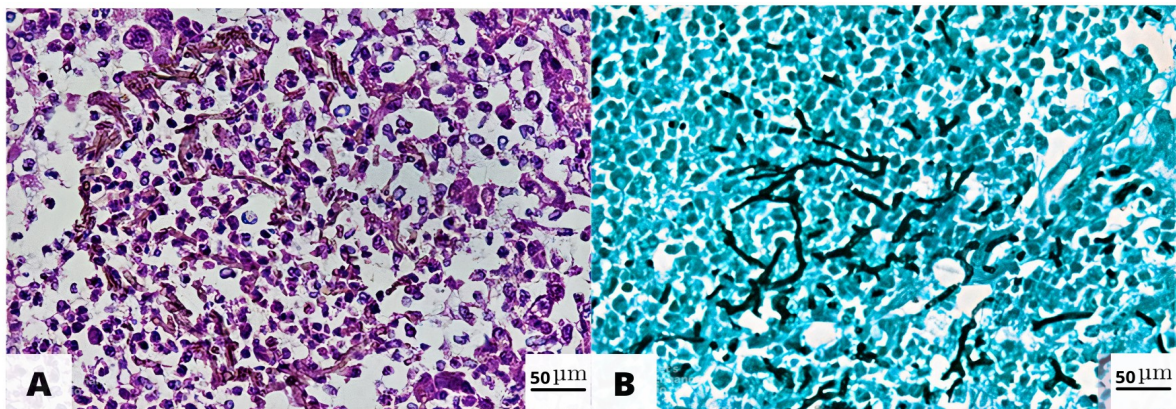


Figura 3. Feo-hifomicose em cão. Encéfalo. (A) Hifas fúngicas de coloração acastanhada em meio a infiltrado piogranulomatoso, H.E., Barra 50µm. (B) Hifas fúngicas evidenciadas pela coloração de Metenamina de Prata de Grocott, Barra 50µm.