

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Éryca Ceolin Lamego

CARACTERIZAÇÃO PATOLÓGICA DA CANDIDÍASE EM ANIMAIS

Santa Maria, RS
2022

Éryca Ceolin Lamego

CARACTERIZAÇÃO PATOLÓGICA DA CANDIDÍASE EM ANIMAIS

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Orientadora: Prof. PhD Gláucia Denise Kommers

Santa Maria, RS
2022

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Lamego, Éryca
Caracterização patológica da candidíase em animais /
Éryca Lamego.- 2022.
74 p.; 30 cm

Orientadora: Glaucia Kommers
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2022

1. Micose 2. Candida spp. 3. Macroscopia 4.
Histopatologia 5. Imuno-histoquímica I. Kommers ,
Glaucia II. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, ÉRYCA LAMEGO, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Éryca Ceolin Lamego

CARACTERIZAÇÃO PATOLÓGICA DA CANDIDÍASE EM ANIMAIS

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Aprovada em 23 de fevereiro de 2022:

Glaucia Denise Kommers, PhD (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Cristina Gevehr Fernandes, Dra. (UFPeI)

Glauco José Nogueira de Galiza, Dr. (UFCEG)

Santa Maria, RS
2022

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, aos meus amados pais Henrique e Estela, por todo apoio, amor incondicional, pelo incentivo incansável e por sempre acreditarem em mim e nos meus sonhos. Em especial, agradeço à minha irmã Enyana, por estar ao meu lado desde que nasci, por compartilhar todas alegrias e tristezas segurando minha mão. Muito obrigada, amo muito vocês!

A todos animais que fazem parte da minha vida e são minha grande inspiração para melhorar profissionalmente, sem eles, nada disso faria sentido. Especialmente, agradeço à minha companheira de vida Mini, sinto tua presença e amor todos os dias no meu coração, obrigada por ter me ensinado tanto com teu olhar.

Aos amigos, que completam a vida com amor, cor, companheirismo, leveza e riso. Obrigada por serem luz nos meus dias mais escuros. Nossa conexão embasa minha vida. Amo vocês demais!

A minha querida orientadora Glaucia Kommers, que me oportunizou ingressar no mundo da patologia veterinária e por quem tenho profunda admiração. Professora, com a senhora aprendi que para sermos bons profissionais, além do domínio técnico, precisamos ter humanidade. Muito obrigada pela confiança, amizade, apoio e aprendizados!

A professora Mariana Flores, pelo trabalho incansável para proporcionar o melhor aprendizado aos alunos. Sua excelência e comprometimento são grandes exemplos para mim. Muito obrigada pela oportunidade e por todos ensinamentos!

A todos professores e colegas médicos veterinários que fazem parte da minha trajetória acadêmica e que me ajudaram na realização desse sonho, vocês foram muito importantes para meu crescimento pessoal e profissional.

Ao programa de Pós-Graduação pela oportunidade, a CAPES e ao CNPq pelos recursos financeiros.

Por fim, agradeço à Universidade Pública, pela infraestrutura e incentivo à pesquisa científica de qualidade.

*“Amar la trama, más que el
desenlace”*

(Jorge Drexler)

RESUMO

CARACTERIZAÇÃO PATOLÓGICA DA CANDIDÍASE EM ANIMAIS

AUTORA: Éryca Ceolin Lamego
ORIENTADORA: Glaucia Denise Kommers

A candidíase, em sua forma superficial ou invasiva, é a doença fúngica mais comum de humanos e está entre as mais diagnosticadas em animais. Apesar disso, há uma lacuna na literatura de estudos sistemáticos que abordem as características dessa infecção em animais e ainda ofereçam alternativas diagnósticas em tecidos parafinizados. Dessa forma, este estudo tem como objetivo caracterizar 56 casos de candidíase em mamíferos domésticos e aves, provenientes de 32 anos da rotina diagnóstica do Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). A avaliação deste conjunto de casos resultou na elaboração de dois artigos científicos que compõem esta dissertação. O primeiro artigo (Artigo 1), aborda os 56 casos de candidíase diagnosticados, onde foram caracterizadas os principais fatores predisponentes, alterações macroscópicas e histopatológicas. Dos 56 casos, o maior número de casos foi em aves (23/56; 41,1%), seguido de cães (22/56; 39,3%), gatos (4/56; 7,1%), suínos (3/56; 5,4%), bovinos (2/56; 3,6%) e ovinos (2/56; 3,6%). Dentre os sistemas orgânicos, o sistema alimentar (35/56; 62,5%) e o tegumentar (15/56; 26,8%) foram os mais afetados. Pode-se observar a candidíase associada principalmente a doenças virais em cães e gatos. Nas aves, pelo grande número de casos não apresentarem doenças concomitantes, a candidíase foi relacionada com outros fatores predisponentes. Na macroscopia, ficou evidente que a candidíase é uma doença de difícil reconhecimento, pois na maioria dos casos em todas as espécies, as lesões macroscópicas estavam relacionadas às doenças concomitantes ou não eram específicas dessa infecção. Histologicamente, foi possível caracterizar e quantificar as formas morfológicas do agente (levedura, pseudo-hifa e hifa) relacionadas aos diferentes diagnósticos morfológicos encontrados. O segundo artigo (Artigo 2), é um relato de caso de uma infecção disseminada por *Candida albicans* em um gato. Esse caso foi abordado separadamente por ser incomum e haver poucos relatos dessa condição em felinos. O animal tinha história clínica de uso de corticoides e antibióticos. Na necropsia foi diagnosticado com pancreatite crônica e em órgãos da cavidade abdominal e torácica foram encontradas áreas extensas e, por vezes, nodulares de material amarelado, opaco e friável. Na histopatologia foi observada inflamação necrossupurativa ou piogranulomatosa associada a leveduras, pseudo-hifas e hifas no omento, serosa intestinal, rim, fígado, pulmão, coração e encéfalo. Nos dois artigos, técnicas histoquímicas como ácido periódico de Schiff (PAS) e impregnação pela prata de Grocott (GMS) foram usadas para melhor visualização do agente intralésional e, no Artigo 1, essas auxiliaram na quantificação do mesmo. Além disso, a utilização da técnica de imuno-histoquímica com anticorpo monoclonal anti-*Candida albicans* para confirmação da etiologia foi um aspecto diferencial importante nos dois artigos científicos.

Palavras-chave: Micose. *Candida* spp. Macroscopia. Histopatologia. Imuno-histoquímica.

ABSTRACT

PATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF CANDIDIASIS IN ANIMALS

AUTHOR: Éryca Ceolin Lamego
ADVISOR: Glaucia Denise Kommers

Superficial or invasive candidiasis is the most common fungal disease in humans and is among the most diagnosed ones in animals. Despite this, there is a gap in the literature of systematic studies that approach the characteristics of this infection in animals and offer diagnostic alternatives in paraffinized tissues. Thus, this study aims to characterize 56 cases of candidiasis in domestic mammals and birds, from 32 years of diagnostic routine at the Laboratory of Veterinary Pathology (LPV) of the Federal University of Santa Maria (UFSM). The evaluation of these cases resulted in two scientific articles that are part of this Dissertation. The first article (Article 1) board 56 cases of candidiasis, where the main predisposing factors, macroscopic and histopathological changes were characterized. Of the 56 cases, the highest number of cases was in birds (23/56; 41.1%), followed by dogs (22/56; 39.3%), cats (4/56; 7.1%), swine (3/56; 5.4%), cattle (2/56; 3.6%) and sheep (2/56; 3.6%). Among the organic systems, the most affected ones were the alimentary (35/56; 62.5%) and integumentary systems (15/56; 26.8%). Candidiasis was observed associated mainly with viral diseases in dogs and cats. In birds, a large number of cases did not present concomitant diseases, so candidiasis was related to other predisposing factors. Macroscopically, it was evident that candidiasis is a difficult disease to recognize. Because, in most cases of all species, gross lesions were caused by concomitant diseases or were not specific to this infection. Histologically, it was possible to characterize and quantify the morphological forms (yeasts, pseudohyphae, and hyphae) associated with different morphological diagnoses. The second article (Article 2) is a case report of a disseminated *Candida albicans* infection in a cat. This case was approached separately because it is uncommon and there are few reports of this condition in felines. The animal has a clinical history of corticosteroids and antibiotic use. At necropsy, it was diagnosed with chronic pancreatitis, and was found extensive and sometimes nodular areas of yellowish, opaque, and friable material in organs of the abdominal and thoracic cavity. Histopathology showed necrosuppurative or pyogranulomatous inflammation associated with yeasts, pseudohyphae and hyphae in the omentum, intestinal serosa, kidney, liver, lung, heart and brain. In both articles, histochemical techniques such as periodic acid Schiff (PAS) and Grocott silver impregnation (GMS) were used for better visualization of the intralesional agent and in Article 1, these helped to quantify it. In addition, the use of the immunohistochemistry (IHQ) technique with an anti-*Candida albicans* monoclonal antibody to confirm the etiology was a highlight in the two scientific articles.

Keywords: Mycoses. *Candida* spp. Macroscopic. Histopathology. Immunohistochemistry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O GÊNERO <i>Candida</i>	10
2.2 FATORES PREDISPOANTES, PATOGÊNESE E ESPÉCIES ACOMETIDAS	11
2.3 PRINCIPAIS SISTEMAS ORGÂNICOS ACOMETIDOS, SINAIS CLÍNICOS E ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS	13
2.4 DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	15
2.5 PRINCIPAIS DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS	16
2.6 TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS AUXILIARES AO DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	17
2.7 IMUNO-HISTOQUÍMICA	18
2.8 OUTRAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS	19
3 ARTIGO 1 – CARACTERIZAÇÃO PATOLÓGICA DA CANDIDÍASE EM ANIMAIS	20
4 ARTIGO 2 – DISSEMINATED CANDIDIASIS IN A CAT: CASE REPORT	53
5 DISCUSSÃO	70
6 CONCLUSÃO	72
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

1 INTRODUÇÃO

Candida spp. são fungos dimórficos, que na forma de leveduras são habitantes comensais do sistema respiratório, alimentar, genital (GIUFFRIDA, 2016) e, por vezes, podem ser encontradas em junções mucocutâneas de animais (MAULDIN; KENNEDY, 2016). Diversas alterações fisiológicas e patológicas são descritas como possíveis fatores predisponentes, que juntamente com a expressão de genes de virulência pelo agente culminam em quadros de candidíase (GIUFFRIDA, 2016; PRESSLER, 2015). Em animais, essa é uma das micoses mais diagnosticadas (GALIZA et al., 2014; SEYEDMOUSAVI et al., 2018) e afeta principalmente os sistemas alimentar, tegumentar, urinário e o contudo auditivo (GIUFFRIDA, 2016).

De fato, assim como em humanos, a candidíase em animais é uma doença essencialmente oportunista (PRESSLER, 2015). Devido a pandemia da COVID-19 (infecção pelo SARS-Cov-2), doenças secundárias, principalmente fúngicas, ganharam notoriedade, pois podem agravar o quadro clínico e comprometer significativamente o prognóstico de pacientes (GANGNEUX et al., 2020). Apesar disso, a candidíase em veterinária ainda é pouco explorada, onde a maioria dos estudos são relatos de casos (BROWN; THOMPSON; MOHAMED et al., 2005; MOKRASTEV et al., 2008; SOUTO et al., 2018) e informações como fatores predisponentes, são advindos da literatura humana e aplicáveis a animais (SEYEDMOUSAVI et al., 2018).

Diversas espécies de *Candida* spp. estão ligadas a essas infecções, sendo *C. albicans* a mais comum (GIUFFRIDA, 2016). Estudos demonstram que há poucas diferenças genótípicas entre as linhagens de *C. albicans* de humanos e animais (EDELMANN; KRÜGER; SCHMID, 2005). Além disso, apontam animais (aves marinhas) como reservatórios intermediários de *C. glabrata* para humanos (AL-YASIRI et al., 2016) e especulam o mesmo para espécies mais patogênicas, como *C. auris* (CASADEVALL; KANTOYONASIS; ROBERTS, 2019).

Com base nisso, esta dissertação tem como objetivo caracterizar os principais fatores predisponentes, aspectos macroscópicos, histopatológicos e histoquímicos de infecções por *Candida* spp. em mamíferos domésticos e aves, confirmados pela técnica de imunohistoquímica para a detecção do agente intralesional. Assim como relatar um caso incomum de candidíase disseminada em um gato. Todos os casos são provenientes da rotina de biópsias e necropsias do Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) em um período de 32 anos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta revisão de literatura serão abordados, de maneira sucinta, considerações gerais sobre a candidíase, as principais espécies e sistemas orgânicos acometidos, os fatores predisponentes, as alterações macroscópicas e histopatológicas, assim como técnicas histoquímicas, imuno-histoquímica e outras técnicas de diagnóstico aplicáveis a essa doença.

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O GÊNERO *Candida*

Os fungos são microrganismos eucariotas, uni- (leveduras) ou pluricelulares (filamentosos), heterotróficos (não sintetizam o próprio alimento), não fotossintéticos e com presença de quitina na parede celular (GAMBELE, 2010; QUINN et al., 2018). Há milhares de espécies de fungos descritas mundialmente, contudo estima-se que apenas centenas dessas sejam patogênicas (QUINN et al., 2018). As doenças fúngicas estão ocorrendo mais frequentemente em humanos e animais (SEYEDMOUSAVI, 2018), em razão do aumento do uso de terapias imunossupressoras, alterações climáticas e expansão das grandes cidades (GUARNER; BRANDT, 2011). Recentemente, alerta-se em humanos, o impacto das infecções fúngicas secundárias ao novo coronavírus (SARS-CoV-2), (GANGNEUX et al., 2020). Dentre esses, há relatos de infecções locais e disseminadas por *Candida* spp., principalmente em pacientes internados em unidades de terapia intensiva (ARASTEHFAR et al., 2020).

A candidíase em sua forma superficial ou invasiva é a micose mais comum em humanos em todo o mundo (CHOWDHARY; SHARMA; MEIS, 2017). Sendo também a infecção fúngica mais diagnosticada em animais na área de abrangência do LPV-UFSM (GALIZA et al., 2014). A espécie *C. albicans* é a mais frequentemente isolada (PRESSLER, 2015). No entanto, esse gênero abriga mais de 200 espécies, muitas saprofíticas das mucosas de animais (GIUFFRIDA, 2016). Devido ao uso generalizado de antifúngicos e a outras causas ainda desconhecidas, outras espécies mais resistentes de *Candida* emergiram, como *C. glabrata*, *C. parapsolis* e *C. tropicalis*, causando doenças em humanos (NUCCI; MARR, 2005) e animais (PRESSLER, 2015).

Além dessas, a partir de 2009 há relatos de infecções em humanos por *Candida auris*, uma espécie emergente, multidroga-resistente e extremamente fatal (JEFFERY-SMITH et al., 2017). Essa está associada a contaminações hospitalares em diversos países, incluindo o Brasil, onde recentemente foi detectada em um paciente acometido pela síndrome respiratória aguda

devido a infecção por SARS-CoV2 (ALMEIDA et al., 2021). Especula-se que aves podem ter sido um hospedeiro intermediário na transformação de *C. auris* de um fungo ambiental para um agente com potencial de transmissão e patogênico (CASADEVALL; KANTOYONASIS; ROBERTS, 2019). Essa hipótese é reforçada por estudos que demonstram que aves marinhas podem agir como reservatórios para transmissão indireta de espécies como *C. glabrata* para humanos (AL-YASIRI et al., 2016). Isso vai ao encontro de artigos científicos anteriores que evidenciam que espécies de *Candida* não são espécie-específicas e há poucas diferenças genotípicas de linhagens de *C. albicans* isoladas de animais e humanos, o que poderia sugerir uma possível capacidade zoonótica desse agente (EDELDMANN; KRÜGER; SCHMID, 2005).

As leveduras de *Candida* spp. pertencem à família *Cryptococcaceae*, classe *Saccharomycetes*, filo *Ascomycota* e são unicelulares com formato ovalado e (GIUFFRIDA, 2016). Essas leveduras são adquiridas, geralmente, por recém-nascidos quando passam pelo canal do parto (PRESSLER, 2015) e se tornam habitantes do trato respiratório superior, alimentar, genital e normalmente não são encontradas na pele, exceto em regiões mucocutâneas (MAULDIN; KENNEDY, 2016). Além disso, são fungos dimórficos, ou seja, quando ocorre invasão tecidual, as leveduras podem assumir a forma filamentosa, devido a mudanças nos fatores ambientais, como alterações na concentração de dióxido de carbono, pH e respostas ao estresse oxidativo (PRESSLER, 2015). Antigamente admitia-se que as leveduras do gênero *Candida* só se reproduziam de forma assexuada por brotamento e formavam pseudo-hifas e hifas (ALBY; BENNET, 2010). Contudo, estudos moleculares demonstram que a reprodução desse gênero é mais complexa e com diversos fatores ainda desconhecidos, onde espécies como *C. albicans* podem se reproduzir por ciclos sexuais e parassexuais (com perda combinada de cromossomos) (ALBY; BENNET, 2010).

2.2 FATORES PREDISPOONENTES, PATOGÊNESE E ESPÉCIES ACOMETIDAS

Anteriormente acreditava-se que as leveduras de *Candida* apresentavam um papel passivo (apenas em casos de imunodeficiência) no estabelecimento de infecções oportunistas (GONÇALVES et al., 2015). Contudo, hoje há uma concordância de que esse agente atua ativamente na patogênese da doença por meio de fatores de virulência e através de alterações da microbiota normal das mucosas (BERTOLINI et al., 2019).

Diversas condições, individuais ou conjuntas, agem para que o agente expresse os genes de virulência (adesinas, enzimas líticas, substâncias toxogênicas e formação de biofilmes) e

migre do estágio comensal para o patogênico/oportunista (GIUFFRIDA, 2016). Dentre os principais fatores predisponentes do hospedeiro estão: defeitos na imunidade mediada por células, doenças concomitantes (ex.: doenças autoimunes, tumores, endocrinopatias), fragilidade das barreiras epiteliais (ex.: uso de cateteres venosos e urinários, queimaduras, excesso de umidade), terapias prolongadas (ex.: uso de antimicrobianos, corticosteroides, imunossupressores) e até condições fisiológicas (ex.: animais jovens e prenhez) (GIUFFRIDA, 2016; PROCOP; ROBERTS, 2004; QUINN et al., 2018; TAMURA et al., 2007). Ou seja, a invasão tecidual por *Candida* spp. depende da combinação entre fatores ligados à virulência do agente e à ruptura de mecanismos de defesa do hospedeiro (GIUFFRIDA, 2016).

Com base nisso, sabe-se que a candidíase em animais e humanos é essencialmente uma infecção oportunista (GIUFFRIDA, 2016). Muitos dos fatores predisponentes citados são advindos da literatura humana e são aplicáveis a animais, tendo em vista que não são espécie-específicos e por ter poucos estudos que abordem essas características em animais (SEYEDMOUSAVI et al., 2018). Por exemplo, no sul do Brasil, as principais causas de morte de cães (FIGHERA et al., 2008), gatos (TOGNI et al., 2018) e bovinos (MOLOSSI et al., 2021) são doenças infecciosas. Dessa forma, identificar e relacionar essas infecções com a candidíase é importante, pois essas coinfeções podem agravar o quadro clínico e contribuir para morte desses animais (ALVES et al., 2020; BORAH et al., 2013).

A patogênese principal se resume na conversão das leveduras em pseudo-hifas e hifas verdadeiras, as quais possuem grande capacidade de aderência, invasão tecidual, maior variabilidade antigênica e estrutura física que dificulta a fagocitose (GIUFFRIDA, 2016). A maioria das espécies de *Candida* se apresentam com a forma de leveduras e produzem pseudo-hifas (THOMPSON; CARLISE; KODOSH, 2011), que são uma série de leveduras unidas entre si formando estruturas alongadas, com constrictões no local da ligação (VESES; GOW, 2009); com exceção de *C. glabrata* que não produz a forma filamentosa (GUARNER; BRANDT, 2011). Vale ressaltar que, dentre as patogênicas, apenas *C. albicans*, *C. dubliniensis* e *C. tropicalis* são capazes de formar hifas verdadeiras (THOMPSON; CARLISE; KODOSH, 2011).

Durante uma infecção, acredita-se que as leveduras ajam principalmente na colonização das superfícies e na disseminação rápida via hematogêna (THOMPSON; CARLISE; KODOSH, 2011). As formas filamentosas atuam na invasão tecidual, onde se estendem a regiões com mais nutrientes e produzem enzimas e toxinas lesivas aos tecidos e às células inflamatórias (GIUFFRIDA, 2016; THOMPSON; CARLISE; KODOSH, 2011). Além disso, outro importante fator de virulência é a formação de biofilmes, que consistem em uma rede de

polissacarídeos poliméricos extracelulares, leveduras em brotamento, pseudo-hifas e hifas (PRESSLER, 2015; QUINN et al., 2018). Esses biofilmes facilitam a aderência e persistência desses microrganismos (PRESSLER, 2015; QUINN et al., 2018), que podem migrar pela barreira transendotelial e se disseminar para vários órgãos, ocasionando doença generalizada (GIUFFRIDA, 2016).

As principais espécies de animais afetadas pela candidíase são as aves, os mamíferos domésticos e silvestres (GIUFFRIDA, 2016; POHLMAN; CHENGAPPA, 2016; PRESSLER, 2015; QUINN et al., 2018). Em aves em geral, a infecção por *Candida* spp. acomete principalmente o sistema digestório (CHARLTON; CHIN; BARNES, 2008). Em mamíferos domésticos, este agente afeta especialmente o conduto auditivo e os sistemas digestório, urinário e tegumentar (GIUFFRIDA, 2016). Entretanto, há relatos de infecções generalizadas (BROWN; THOMPSON; MOHAMED, 2005), oculares (GIUFFRIDA, 2016; PRESSLER, 2015), cerebrais (SOUTO et al., 2018), articulares (MADISON; REID; RASKIN, 1995) e ósseas (KRASSTEV et al., 2008). Além das espécies já citadas anteriormente, outras espécies bastante isoladas em animais são: *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. inconspicua*, *C. lusitaniae* e *C. kefyr* (GIUFFRIDA, 2016; PRESSLER 2015).

Comparativamente, em humanos, os locais mais afetados pela candidíase são a cavidade oral e o sistema genital (principalmente em mulheres) e em menor proporção o sistema gastrointestinal (GUARNER; BRANDT, 2011). Além disso, uma grande preocupação são as infecções fúngicas em pacientes hospitalares, onde o gênero *Candida* é responsável por 80% dessas, geralmente associado a casos de candidemia (TAMURA et al., 2007).

2.3 PRINCIPAIS SISTEMAS ORGÂNICOS ACOMETIDOS, SINAIS CLÍNICOS E ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS

As afecções do sistema alimentar ocorrem essencialmente em animais jovens (CHARLTON; CHIN; BARNES, 2008; UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). Esse sistema foi o mais acometido por *Candida* spp. no estudo retrospectivo realizado no LPV-UFSM (GALIZA et al., 2014). As lesões podem ocorrer secundariamente a fatores predisponentes já citados ou em consequência de enteropatias, como a parvovirose e a hipersensibilidade alimentar em cães (PRESSLER, 2015). Palermo, Newman e Koch (2019) também relataram um caso de colecistite causada por *C. albicans* em um gato sem imunodeficiência conhecida, o que corrobora que este agente pode ser responsável primariamente por doenças. Os animais acometidos podem apresentar halitose, salivação,

regurgitação com conteúdo pastoso esbranquiçado, vômito, diarreia e emagrecimento progressivo, entre outros sinais clínicos inespecíficos (CHARLTON; CHIN; BARNES, 2008; PRESSLER, 2015). Em geral, as lesões são estomatites, esofagites, ruminites, gastrites e enterites, que correspondem a placas pseudomembranosas esbranquiçadas ou beges, com bordas eritematosas que culminam em úlceras (UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016).

Na pele, as infecções são menos comuns e mais observadas em cães (GIUFFRIDA, 2016). Essas acometem principalmente junções mucocutâneas, extremidades distais, região inguinal, orelha externa e podem formar lesões difusas (GROSS et al., 2005; PRESSLER, 2015). As lesões geralmente são pruriginosas e dolorosas podendo ser pioradas por infecção bacteriana secundária (GROSS et al., 2015). Apresentam-se como vesículas, pústulas, erosões eritematosas com exsudação fétida e crostas, o que pode mimetizar doenças autoimunes e imunomediadas (GROSS et al., 2005). As principais espécies associadas a afecções cutâneas são *C. albicans*, *C. parapsolis* e *C. guillermondii* (GIUFFRIDA, 2016; MUELLER; BETTENAY; SHIPSTONE, 2002).

Infecções no sistema urinário pelo gênero *Candida* são poucos comuns em animais e quando ocorrem, afetam principalmente cães e gatos (GIUFFRIDA, 2016). Estas representam aproximadamente 1% das doenças do trato urinário em animais de companhia (LING et al., 2001) e estão principalmente ligadas a fatores predisponentes (como uso de cateteres e sondas vesicais). Além disso, podem agir como agente secundário em outras doenças (como urolitíase e diabetes) (PRESSLER et al., 2004). A apresentação clínica dessa doença no trato urinário ainda é bastante inconsistente, onde os animais podem ser assintomáticos ou não, com sinais clínicos como disúria, hematúria, polaciúria, anorexia e febre (GIUFFRIDA, 2016; PRESSLER et al., 2004). Os principais órgãos acometidos são a vesícula urinária e o rim (pelve renal) (PRESSLER et al., 2004).

No sistema reprodutor, sabe-se que *Candida* spp. é um dos agentes ambientais mais comuns em mastite de bovinos, com várias espécies isoladas (*C. albicans*, *C. krusei*, *C. parakrusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. lusitaniae*) (RIBEIRO et al., 2016). Na macroscopia, as lesões podem ser múltiplos focos necróticos irregulares de diâmetro variável circundadas por tecido de granulação (KITAMURA et al., 1990). Além disso, descrevem-se também abortos causados por *Candida* spp. em bovinos e equinos, principalmente em decorrência de placentites micóticas (GIUFFRIDA, 2016; SCHLAFER; FOSTER, 2016).

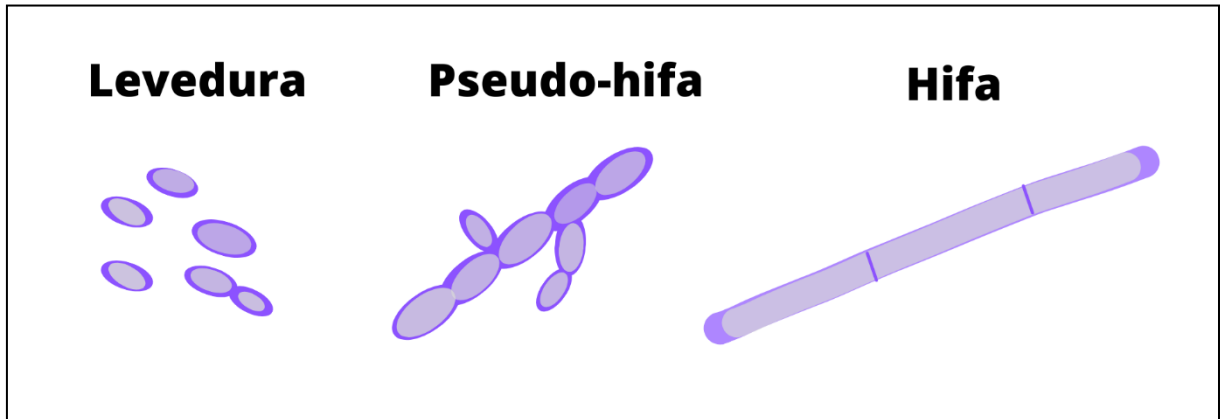
2.4 DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO

O histórico de fatores predisponentes e os sinais clínicos podem direcionar ao diagnóstico de candidíase em animais (GIUFFRIDA, 2016), obtendo a confirmação pela cultura microbiológica (exame padrão-ouro) (PRESSLER, 2015). Contudo, micoses sistêmicas em geral podem ser difíceis de serem reconhecidas, pois não apresentam sinais clínicos específicos e, por isso, geralmente são diagnosticadas apenas no momento do exame histopatológico (JENSEN et al., 1996). Isso reflete a realidade de muitos laboratórios de patologia (como o LPV-UFSM, por exemplo), onde geralmente são remetidos apenas espécimes fixados em formol ou, no momento da necropsia, as alterações não indicarem uma doença fúngica, não sendo realizado o envio para a análise microbiológica. Além dessa problemática, o exame histopatológico é de grande importância, visto que, permite definir o significado da cultura positiva em um determinado tecido, pois avalia a invasão tecidual e a resposta do hospedeiro ao agente (GUARNER; BRANDT, 2011).

Na histopatologia, as leveduras são células únicas ovaladas de 3 a 5 μm de diâmetro, com ou sem brotamentos e geralmente se encontram em aglomerados (GUARNER; BRANDT, 2011; THOMPSON; CARLISE; KADOSH, 2011; UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). As pseudo-hifas diferem-se das hifas verdadeiras por serem elipsoidais e apresentarem constrições (no local da junção septal) (THOMPSON; CARLISE; KADOSH, 2011; UZAL, PLATTNER; HOSTETTER, 2016). As hifas são células uniformes em largura com septos verdadeiros e sem constrições, por vezes ramificadas (THOMPSON; CARLISE; KADOSH, 2011). Essas estruturas estão demonstradas na Figura 1.

Lesões associadas à infecção geralmente consistem em degeneração vacuolar epitelial, com inflamação composta de neutrófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos (GROSS et al., 2005; GUARNER; BRANDT, 2011; UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). Células gigantes multinucleadas e formação de granulomas também podem ser encontradas (GIUFFRIDA, 2016; GUARNER; BRANDT, 2011). Necrose, congestão, erosão e úlceras são achados frequentes nessas lesões (UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). Na pele, descreve-se a formação de pústulas contendo o microrganismo (GROSS et al., 2005). Ainda, quando há invasão vascular, podem ocorrer aneurismas micóticos e tromboflebites (GUARNER; BRANDT, 2011).

Figura 1 - Formas morfológicas observadas em infecções por *Candida* spp. em tecidos de animais



Fonte: (Lamego, 2022)

2.5 PRINCIPAIS DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS

Dentre os principais diagnósticos diferenciais para infecções por *Candida* spp. em tecidos de animais, estão leveduras e formas filamentosas de agentes fúngicos, que podem variar de acordo com a espécie animal e o local afetado (GIUFFRIDA, 2016, UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). Nos próximos parágrafos serão descritos os principais agentes fúngicos diferenciais de candidíase na nossa região (GALIZA et al., 2014). Esses estão agrupados de acordo com o principal sistema orgânico de acometimento, contudo, vale ressaltar que muitos desses microrganismos podem afetar mais de um sistema.

No sistema alimentar de cães, gatos e ruminantes podemos destacar infecções por zigomicetos e pelo oomiceto *Pythium insidiosum* (UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). Entre os zigomicetos, membros da família *Mucoraceae* são os principais agentes que acometem esse sistema (UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). Na histopatologia, diferem-se de *Candida* spp. por apresentarem hifas largas com diâmetro de até 25 μm , com ramificações irregulares, dilatações globosas e raras septações (UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). A pitiose gastrointestinal é uma doença importante em cães e ocorre de forma esporádica em ruminantes, afetando também a pele dessas espécies (UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). Nos tecidos de animais, esse oomiceto se caracteriza por imagens negativas de hifas, as quais são septadas, ramificadas de até 15 μm de diâmetro (GAASTRA et al., 2010). Além dessas, a infecção pela levedura *Cyniclomyces guttulatus* em cães, apesar de incomum, pode

entrar nos diferenciais pela aparência morfológica que consiste em estruturas basofílicas, cilíndricas, alongadas de até 4 µm de diâmetro e contendo dois núcleos (WINSTON et al., 2016).

No sistema tegumentar, a malasseziose e a dermatofitose são os principais diagnósticos diferenciais de candidíase (MAULDIN; KENNEDY, 2016). A malasseziose é comumente diagnosticada em otites de cães e bovinos, onde a principal espécie é *Malassezia pachydermatis* (GIUFFRIDA, 2016). Essas são leveduras pequenas, ovais, globosas de até 2 µm de diâmetro (MAULDIN; KENNEDY, 2016). A dermatofitose por sua vez, é uma zoonose que acomete diversas espécies de animais e é ocasionada por fungos dos gêneros *Microsporum*, *Trichophyton*, e *Epidermophyton* (FARIAS; COSTA; GIUFFRIDA, 2016). Na histopatologia esses se apresentam no interior de folículos pilosos como artrósporos (ectotrix e endotrix), que são redondos, basofílicos e com até 2 µm de diâmetro e hifas septadas, ramificadas de até 3 µm de diâmetro (MAULDIN; KENNEDY, 2016).

Por fim, a aspergilose, principalmente com acometimento do sistema respiratório de aves e mamíferos, é uma micose importante na nossa região (GALIZA et al., 2014). Na histopatologia, esses formam hifas tubiliformes de até 20 µm, septadas com ramificações dicotômicas (DAY, 2015). Apesar de todas as micoses e oomicoses descritas apresentarem aspectos morfológicos semelhantes a candidíase, vale ressaltar que, a morfologia das leveduras, pseudo-hifas e hifas de *Candida* spp. são bem características e na maioria dos casos, facilmente diferenciada, o que torna o diagnóstico histopatológico uma ferramenta acurada para essa micose (KUNG; CHERNOCK; BURNHAM, 2018).

2.6 TÉCNICAS HISTOQUÍMICAS AUXILIARES AO DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO

A identificação e a diferenciação de agentes fúngicos na coloração de rotina (hematoxilina e eosina) pode ser difícil, uma vez que estes possuem morfologias semelhantes (KAUFFMAN, 1992). Com base nisso, as colorações histoquímicas consistem em técnicas auxiliares que são amplamente utilizadas para melhor visualização e caracterização morfológica desses agentes (GUARNER; BRANDT, 2011; KAUFFMAN, 1992). Entre as principais técnicas histoquímicas utilizadas para o gênero *Candida* estão o ácido periódico de Schiff (PAS) e a impregnação pela prata de Grocott (GMS) (GUARNER, BRANDT, 2011; KAUFFMAN, 1992; PRESSLER 2015).

Candida spp. são evidenciadas, geralmente, por colorações especiais classificadas como de “amplo espectro”, como o PAS e o GMS, que coram diversos tipos de agentes fúngicos (YOUNGBERG et al., 2003). A utilização do PAS se baseia na detecção de polissacarídeos nos tecidos (CULLING; ALISSON; BARR, 1985), o que evidencia a parede celular fúngica a qual é rica em glicogênio e quitina e se coram de rosa avermelhado (GUARNER; BRANDT, 2011). A técnica de GMS é considerada a mais eficiente para detecção de fungos em micoses profundas, e ainda pode ser usada para a marcação de membrana basal e carboidratos (D’HUE; PERKINS; BILLINGS, 2008). Na histologia, os fungos são impregnados pela prata e aparecem pretos ou marrom-escuros (GUARNER; BRANDT, 2011). Outra técnica descrita para o diagnóstico de candidíase é a coloração de Gram que, apesar do seu uso ser destinado a bactérias, também pode ser utilizada para fungos, sendo *Candida* spp. gram-positiva (GUARNER; BRANDT, 2011).

2.7 IMUNO-HISTOQUÍMICA

Apesar das inúmeras vantagens do exame histopatológico juntamente com as colorações histoquímicas, para avaliação da resposta do hospedeiro e morfologia do agente fúngico (KAUFFMAN, 1992), essas técnicas ainda apresentam certas limitações ao diagnóstico e discrepâncias aos resultados da cultura microbiológica (GUARNER; BRANDT, 2011). Entre os principais fatores limitadores desses métodos, apontados por Guarner e Brandt (2011) estão: a escassez ou falta de elementos fúngicos na amostra, presença de apenas estruturas fúngicas fragmentadas, detecções inespecíficas pelas colorações histoquímicas, não identificação do gênero ou espécie e dificuldade em diferenciar agentes fúngicos em infecções mistas. Com base nisso, o uso de outras ferramentas diagnósticas, como a imuno-histoquímica (IHQ), que permitem a identificação acurada do agente etiológico em tecidos fixados em formol são fundamentais (GUARNER; BRANDT, 2011).

A IHQ é uma importante ferramenta para identificação de elementos fúngicos, pois permite a combinação da avaliação morfológica com a detecção específica do microrganismo (ou mais de um microrganismo, em infecções mistas) (EYZAGUIRRE; HAQUE, 2008; GUARNER; BRANDT, 2011; JENSEN et al., 1996). Para agentes do gênero *Candida*, há diversos anticorpos monoclonais e policlonais que são sensíveis, fortemente reativos e não fazem reação cruzada com outros fungos (EYZAGUIRRE; HAQUE, 2008). Um exemplo desses é o anticorpo monoclonal H38 para *Candida albicans*, caracterizado como uma forma segura para o diagnóstico desse agente em tecidos parafinizados (MARCILLA et al., 1999).

Contudo, estudos específicos de candidíase em animais com elaboração de protocolos a fim de otimizar a técnica de IHQ para a rotina da patologia veterinária ainda são escassos na literatura e restringem-se geralmente a relatos de casos (SOUTO et al., 2018).

2.8 OUTRAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS

Além das ferramentas diagnósticas já discutidas nessa revisão, outros métodos são amplamente utilizados para o diagnóstico de infecções do gênero *Candida* em animais e humanos, como a citologia, hibridização *in situ*, reação em cadeia de polimerase (PCR) e a microdissecção a laser (GIUFFRIDA, 2016; GUARNER; BRANDT, 2011; PRESSLER, 2015). O exame citológico é realizado através de esfregaços corados por colorações usuais, como Panótico Rápido, de amostras suspeitas (exsudatos, cerúmen, urina, etc.) (GIUFFRIDA, 2016). O diagnóstico é realizado pela observação de leveduras ovaladas, com brotamento de base afilada, e pseudo-hifas (GIUFFRIDA, 2016). A hibridização *in situ*, por sua vez, é realizada em tecidos fixados em formol e parafinizados, e se baseia na detecção de ácidos nucleicos fúngicos associados à morfologia tecidual (GUARNER; BRANDT, 2011). PCR pode ser utilizada para detecção de DNA fúngico em sangue, urina (PRESSLER, 2015) e em tecidos fixados em formol e parafinizados (GUARNER; BRANDT, 2011). Sua principal vantagem consiste na detecção específica do agente (GUARNER, BRANDT, 2011; PRESSLER, 2015). Por fim, relata-se a técnica de microdissecção a laser, que combina a microscopia com a tecnologia a laser e permite o estudo de tipos celulares específico, mas apresenta um custo elevado (GUARNER; BRANDT, 2011).

3 ARTIGO 1 – CARACTERIZAÇÃO PATOLÓGICA DA CANDIDÍASE EM ANIMAIS

Artigo a ser submetido após tradução à revista *Journal of Comparative Pathology*.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

Caracterização patológica da candidíase em animais

Éryca C Lamego^{*}, Luíza M Eisenhardt^{*}, Pedro Henrique S Buttelli^{*}, Mariana M Flores^{*}, Rafael A Figuera^{*}, Luiz F Irigoyen^{*}, Glaucia D Kommers^{*}

^{}Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.*

Autor para correspondência:

G. D. Kommers

Laboratório de Patologia Veterinária, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima 1000, Camobi, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil.

22

Resumo

23 Este estudo tem como objetivos caracterizar as principais doenças concomitantes, os achados
24 macroscópicos, histopatológicos e histoquímicos de 56 casos de candidíase em animais (cães,
25 gatos, bovinos, ovinos, suínos e aves), confirmados através da técnica de imuno-histoquímica
26 com anticorpo monoclonal anti-*Candida albicans*. As informações foram coletadas de laudos
27 de necropsias e histopatológicos da rotina do Laboratório de Patologia Veterinária da
28 Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM) de 1990 a 2021. Técnicas histoquímicas
29 auxiliares foram empregadas para melhor visualização e quantificação do agente. O maior
30 número de casos foi em aves (23/56; 41,1%), seguido de cães (22/56; 39,3%), gatos (4/56;
31 7,1%), suínos (3/56; 5,4%), bovinos (2/56; 3,6%) e ovinos (2/56; 3,6%). Dentre os sistemas
32 orgânicos, o sistema alimentar (35/56; 62,5%) e o tegumentar (15/56; 26,8%) foram os mais
33 afetados. De acordo com os fatores desencadeantes, nos cães e nos gatos foi observado uma
34 predominância de doenças infecciosas (principalmente virais 12/26; 46%). Nas aves, a
35 maioria dos casos (16/23; 69,6%), não havia diagnóstico de uma doença concomitante,. Na
36 macroscopia ficou evidente que a candidíase é de difícil reconhecimento, pois não cursa com
37 lesões típicas e pode estar oculta pelas doenças primárias. Na histopatologia, essa estava
38 relacionada principalmente com lesões ulcerativas, erosivas, fibrinonecróticas e hiperkeratose.
39 As diferentes formas morfológicas de *Candida* sp. foram encontradas em todos os sistemas,
40 onde quantidade acentuada do agente foi vista principalmente no sistema alimentar e infecções
41 disseminadas. A utilização da técnica de imuno-histoquímica com anticorpo monoclonal anti-
42 *Candida albicans* permitiu a confirmação do agente intralesional.

43 **Palavras-chave:** fungo, micose, histopatologia, imuno-histoquímica.

44

Introdução

45 A candidíase, em sua forma superficial ou invasiva, é a infecção fúngica mais comum
46 em humanos (Chowdhary et al, 2017) e está entre as mais diagnosticadas em animais (Galiza
47 et al, 2014; Seyedmousavi et al, 2018). Em mamíferos domésticos e aves em geral, essa
48 doença afeta principalmente os sistemas tegumentar, alimentar, urinário e o conduto auditivo
49 (Pressler, 2015; Giuffrida, 2016). Por ser uma micose essencialmente oportunista, a
50 combinação de fatores predisponentes do hospedeiro e a expressão de fatores de virulência
51 pelo agente são cruciais para o estabelecimento desta enfermidade (Pressler, 2015).

52 A principal espécie isolada em humanos e animais é *C. albicans* (Uzal et al, 2016).
53 Apesar do potencial zoonótico baixo dessa infecção (Seyedmousavi et al, 2018), estudos
54 demonstram que há poucas diferenças genotípicas entre as linhagens de *C. albicans* de
55 humanos e animais (Edelmann et al, 2005). Além disso, apontam animais (aves marinhas)
56 como reservatórios intermediários de *C. glabrata* para humanos (Al-Yasiri et al, 2016) e
57 especulam o mesmo para espécies mais patogênicas, como *C. auris*, causadora de infecções
58 graves em humanos (Casadevall et al, 2019).

59 Apesar dessas evidências e da importância clínica que a candidíase tem para animais,
60 há escassez de estudos sistemáticos que abordem as características patológicas da candidíase
61 em animais domésticos (Pressler, 2015; Seyedmousavi et al, 2018,). Além disso, tendo em
62 vista que infecções fúngicas em geral podem ser de difícil reconhecimento e, muitas vezes,
63 serem diagnosticadas apenas no momento do exame histopatológico (Kaufman, 1992; Jensen
64 et al, 1996). Dessa forma, este artigo tem como objetivos caracterizar as principais doenças
65 concomitantes, os achados macroscópicos, histopatológicos e histoquímicos de 56 casos de
66 candidíase em animais (cães, gatos, bovinos, ovinos, suínos e aves domésticas, silvestres e
67 exóticas), bem como demonstrar a utilização a técnica de imuno-histoquímica com anticorpo
68 monoclonal para a confirmação do diagnóstico.

69

70

Material e Métodos

71 *Casuística*

72 Os arquivos de laudos de necropsias e biópsias do LPV-UFSM, entre 1990 e 2021,
73 foram revisados e todos os casos diagnosticados como de infecção por fungo
74 morfológicamente compatível com *Candida* spp. em cães, gatos, bovinos, ovinos, suínos e
75 aves em geral, foram incluídos. Informações como espécie, ordem, raça, sexo, idade, doenças
76 concomitantes, localização anatômica das lesões, macroscopia e diagnóstico morfológico
77 foram extraídas dos laudos e computadas. Os animais domésticos foram classificados como
78 de raça pura ou sem raça definida (SRD) e as aves foram agrupadas de acordo com a ordem,
79 conforme a classificação taxonômica. As doenças concomitantes, previamente diagnosticadas
80 pelo exame histopatológico, foram consideradas como possíveis fatores predisponentes para
81 candidíase.

82

83 *Avaliação macroscópica, histopatológica e uso de técnicas histoquímicas e de imuno-*
84 *histoquímica (IHQ)*

85 Por ser uma doença essencialmente oportunista, a candidíase foi avaliada de acordo
86 com o contexto na qual estava inserida. Dessa forma, os achados macroscópicos e
87 histopatológicos foram organizados juntamente com a idade dos animais e as doenças
88 concomitantes. As alterações macroscópicas foram computadas conforme a descrição nos
89 laudos e foram complementadas quando havia arquivo fotográfico disponível. A reavaliação
90 histológica foi realizada nos casos em que havia material parafinado suficiente para a
91 realização de novos cortes histológicos. Para essa reavaliação, critérios como diagnóstico
92 morfológico, morfologia fúngica (levedura, pseudo-hifa e hifa) e quantidade do agente (leve,
93 moderada ou acentuada) foram empregados.

94 Para avaliação da morfologia fúngica e quantificação do agente intralesional, foram
95 utilizadas as colorações histoquímicas de impregnação pela prata de Grocott (GMS; kit
96 EasyPath) e ácido periódico de Schiff (PAS, kit EasyPath). A morfologia fúngica foi
97 determinada pelos critérios estabelecidos na literatura (Guarner and Brandt 2011, Thompson
98 et al. 2011). Foram consideradas como leveduras as estruturas únicas, ovais a redondas,
99 basofílicas, por vezes, apresentando brotamentos. As pseudo-hifas foram interpretadas como
100 estruturas elipsoidais com constrições. As hifas foram consideradas estruturas uniformes em
101 largura, com paredes paralelas e raramente septadas (Guarner and Brandt 2011, Thompson et
102 al. 2011). A quantificação do agente intralesional foi estabelecida através de comparação
103 subjetiva entre os casos e adaptada de acordo com Pina et al. (2020). Os casos com quantidade
104 leve foram aqueles que apresentaram somente leveduras; quantidade moderada aqueles com
105 até 10 pseudo-hifas ou hifas em um campo de grande aumento (400x) e quantidade acentuada
106 aqueles com mais de 10 pseudo-hifas ou hifas em um campo de grande aumento (400x). Nos
107 casos em que não havia material disponível para reavaliação, as informações referentes à
108 morfologia fúngica foram extraídas do laudo. Contudo, a quantificação não pôde ser realizada.

109 Para confirmação do agente, foi utilizada a técnica de imuno-histoquímica (IHQ) com
110 anticorpo primário monoclonal, produzido em camundongo, anti-*Candida albicans*
111 (Invitrogen; clone A97H). O tempo de fixação das amostras era desconhecido. Os casos com
112 material disponível foram cortados em lâminas silanizadas e, após a desparafinização e
113 hidratação, foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio 3%
114 (2x de 10 minutos). A recuperação antigênica foi realizada em forno micro-ondas, em potência
115 máxima, com solução de TRIS-EDTA (pH 9,0), durante 10 minutos. O bloqueio das reações
116 inespecíficas foi realizado com bloqueador de proteína (kit EasyLink One; Easypath) em
117 temperatura ambiente por 10 minutos. A diluição do anticorpo primário foi de 1:40 em PBST
118 (tampão salina fosfato com Tween 20; Sigma) e incubado por uma hora a 37°C em câmara

119 úmida. Em casos pontuais foi utilizada incubação overnight (18 horas a 4 °C) para melhor
120 imunomarcação. Como anticorpo secundário-amplificador foi utilizado o polímero
121 EasyLinkOne-HRP (kit EasyLink One; EasyPath) e para detecção foi utilizado o cromógeno
122 DAB (kit EasyLink One; Easypath) por 20 minutos. Por fim, as lâminas foram contra-coradas
123 com hematoxilina de Harris. Como controle positivo foram utilizados tecidos de um cão com
124 candidíase por *C. albicans*, confirmado por cultura micológica e pela Reação em Cadeia da
125 Polimerase (PCR), com sequenciamento do DNA (região do rDNA e do domínio D1/D2 do
126 gene do RNA ribossômico 26S). Como controle negativo de cada caso, foi utilizada uma
127 secção de tecido incubado apenas com o diluente (PBST). O anticorpo monoclonal anti-
128 *Candida albicans* foi testado em casos de malasseziose (canina), dermatofitose (canina e
129 felina), esporotricose (felina), criptococose (canina e felina), aspergilose (aviária e equina),
130 histoplasmose (felina) e zigomicose (bovina). Em todas essas amostras, a reação foi negativa,
131 o que demonstra a especificidade do anticorpo.

132

133

Resultados

134 *Casuística*

135 No período estudado, foram encontrados 56 casos de candidíase distribuídos em cães,
136 gatos, suínos, bovinos, ovinos e aves, dos quais 32 (57,1%) eram biópsias e 24 (42,9%)
137 necropsias. O maior número de casos foi em aves (23/56; 41,1%), seguido de cães (22/56;
138 39,3%), gatos (4/56; 7,1%), suínos (3/56; 5,4%), bovinos (2/56; 3,6%) e ovinos (2/56; 3,6%).

139 As aves foram agrupadas de acordo com a ordem, em psittaciformes (11/23; 47,8%),
140 passeriformes (5/23; 21,7%), rheiformes (3/23; 13%), galináceos (2/23; 8,7%), anseriformes
141 (1/23; 4,3%) e struthioniformes (1/23; 4,3%). De acordo com o sexo, 10 (10/23; 43,5%) eram
142 fêmeas, seis (6/23; 26,1%) machos e em sete animais o sexo não foi informado. Os casos de

143 candidíase em mamíferos corresponderam a 33 animais. Destes, os cães com raça definitiva
144 foram os mais acometidos com (15/22; 68,2%), com destaque para o Pastor Alemão, Chow-
145 chow e Dachshund. Animais classificados como SRD corresponderam a 31,8% (7/22) dos
146 casos. Quanto ao sexo, predominaram as fêmeas, com 68,2% (15/22), seguida dos machos,
147 com 27,3% (6/22). Em um cão não havia informação quanto ao sexo. Nos gatos, 75% (3/4)
148 eram SRD e o único gato com raça definitiva correspondeu a um Persa. Os casos de candidíase
149 em suínos e ovinos foram observados em animais machos e SRD. Nos bovinos, um caso foi
150 observado em uma fêmea da raça Hereford e o outro em um macho, SRD.

151 *Avaliação macroscópica, histopatológica e uso de técnicas histoquímicas e de imuno-*
152 *histoquímica (IHQ)*

153 As reavaliações histológicas, histoquímicas e a IHQ foram realizadas em 42 casos.
154 Com o uso das colorações especiais, foi possível observar os detalhes das estruturas fúngicas,
155 como constrições, septos (Figura 1, 2) e ramificações bem como a quantificação dessas (Figura
156 3, 4, 5). Na IHQ, os 42 casos foram positivos para o anticorpo anti-*Candida albicans* (Figura
157 6, 7).

158 Dos 56 casos, 35 (35/56; 62,5%) afetaram o sistema alimentar, seguido do tegumentar
159 (15/56; 26,8%), respiratório (2/56; 3,6%), cardiovascular (1/56; 1,8%) e urinário (1/56; 1,8%).
160 Além disso, dois casos (2/56; 3,6%) eram infecções disseminadas, ou seja, afetaram mais de
161 dois sistemas orgânicos.

162 *Sistema alimentar*

163 Neste sistema, os 35 casos foram distribuídos em 16 (16/35; 45,7%) casos em aves, 14
164 (14/35; 40%) em cães, dois (2/35; 5,7%) em suínos e um caso em gatos (1/35; 2,9%), bovinos
165 (1/35; 2,9%) e ovinos (1/35; 2,9%). Os órgãos acometidos, as doenças concomitantes, a
166 macroscopia, o diagnóstico morfológico, a quantidade e a morfologia do agente estão

167 sumarizados nas Tabelas 1, 2 e 3. Na Tabela 1, foram agrupados os casos de aves; na Tabela
168 2, os casos em animais de companhia (cães e gatos) e, na Tabela 3, os casos em ruminantes e
169 suínos.

170 Nas aves, os principais órgãos afetados foram esôfago (7/16; 43,8%), inglúvio (3/16;
171 18,8%) e ventrículo (3/16; 18,8%). A ausência de diagnóstico de doença concomitante foi
172 recorrente (11/16; 68,8%) neste grupo e, quando houve, foram principalmente de doenças
173 infecciosas (4/16; 25%). Na macroscopia, muitos casos (6/16; 37,5%) não apresentaram
174 alterações e por serem provenientes de uma rotina de biópsias, em cinco casos essa informação
175 não estava presente. Ao exame histopatológico, hiperkeratose (7/16; 43,8%) e inflamação
176 heterofílica (4/16; 25%) foram os achados mais frequentes. Nos casos em que se pode
177 quantificar o agente intralesional, foi prevalente quantidade moderada (6/16; 37,5%) com
178 presença de leveduras e pseudo-hifas.

179 Nos cães e nos gatos, esôfago (4/15; 26,7%), estômago (4/15; 26,7%) e intestino
180 delgado (4/15; 26,7%) foram os órgãos mais afetados pela candidíase. A parvovirose foi a
181 doença concomitante mais comum (5/15; 33,3%) nos cães e, no geral, doenças infecciosas,
182 degenerativas e neoplásicas estavam presentes. Lesões erosivas e ulcerativas, principalmente
183 associadas às doenças primárias, foram alterações recorrentes (5/15; 33,3%). Dois casos (2/15;
184 13,3%) eram de mucosas recobertas por material grumoso brancacento. Na histologia, o
185 componente fibrinonecrótico foi o mais frequente (8/15; 53,3%). Além disso, foram
186 observadas tanto quantidade moderada (4/15; 26,7%) como acentuada (4/15, 26,7%) de
187 leveduras, pseudo-hifas e hifas.

188 Nos suínos, os casos de candidíase afetaram o sistema alimentar (esôfago e estômago)
189 e dentre as doenças concomitantes, estão um caso de enterite traumática (por fibra) e um caso
190 de sepse. Na macroscopia, a mucosa estava recoberta por material amarelado e erosões foram
191 observadas, as quais foram diagnosticadas na histologia como inflamação mista e erosiva

192 respectivamente, com quantidade variável do agente. Nos ruminantes, as lesões foram na
193 língua e no rúmen e uma doença tóxica foi computada como primária. Úlceras e mucosa
194 recoberta por material grumoso branco estavam entre os achados macroscópicos. Ao exame
195 histopatológico, os componentes ulcerativo e fibrinonecrótico estavam presentes associados à
196 quantidade variável do agente.

197 *Sistema tegumentar*

198 Os 15 casos deste sistema corresponderam a sete (7/15; 46,7%) em aves, seis (6/15;
199 40%) em cães, um em gato (1/15; 6,7%) e um em ovino (1/15; 6,7%). Os casos de aves, cães
200 e gatos estão organizados nas Tabelas 4 e 5 respectivamente. O local de candidíase cutânea
201 nas aves, quando informado, variou entre cabeça e membros pélvicos. A ausência de doenças
202 concomitantes foi frequente (5/7; 71,4%), mas, quando presentes, estas eram virais. A
203 formação de crostas foi um achado macroscópico comum (4/7; 57,1%). Na histologia, na
204 maioria dos casos (5/7; 71,4%) estava presente hiperqueratose, associada a diferentes tipos
205 inflamatórios. Mais da metade dos casos (4/7; 57,1%) apresentou quantidade leve do agente
206 com leveduras intralésionais.

207 Nos cães e nos gatos, nenhum local específico do sistema tegumentar se destacou como
208 o mais acometido por *Candida* sp. As doenças virais, como parvovirose, cinomose e infecção
209 por FeLV, foram a maioria (5/7; 71,4%) das doenças concomitantes. Na macroscopia,
210 novamente lesões ulcerativas estavam presentes em quase todos os casos (6/7; 85,7%). Já na
211 histopatologia, os principais diagnósticos foram de dermatite ulcerativa (3/7; 42,9%) ou
212 fibrinonecrosupurativa (2/7; 28,6%). De acordo com a quantidade, os casos foram
213 classificados como leves (3/7; 42,9%) ou moderados (4/7; 57,1%), sendo observadas
214 leveduras e pseudo-hifas.

215 O único caso de ovino neste sistema é de um animal de dois meses de idade, com
216 nódulos ulcerados distribuídos pelo corpo, os quais foram diagnosticados como proliferação
217 fibrovascular. Na histopatologia, na superfície em meio à crosta, foi observada quantidade
218 moderada de leveduras e pseudo-hifas.

219 *Sistema cardiovascular*

220 Um caso de um bovino, de seis anos, que veio a óbito devido à infecção pelo complexo
221 tristeza parasitária bovina. Na macroscopia, o saco pericárdico estava repleto de líquido
222 alaranjado e com pequena quantidade de fibrina. Ao exame histopatológico foi observada
223 pericardite granulomatosa focalmente extensa acentuada, associada à quantidade acentuada
224 de leveduras, pseudo-hifas e hifas.

225 *Sistema urinário*

226 Apenas um caso de candidíase acometendo o sistema urinário foi encontrado. O caso
227 ocorreu em um cão, de idade não informada e sem diagnóstico de doença concomitante. Na
228 macroscopia, apresentava dilatação da pelve renal com conteúdo amarelado e pastoso.
229 Também havia necrose na medular interna. Na histopatologia, foi observada pielite
230 linfoplasmocítica e neutrofílica, associada à quantidade moderada de leveduras e pseudo-
231 hifas.

232 *Sistema respiratório*

233 No sistema respiratório foram encontrados dois casos: em um gato e outro em um
234 suíno. O gato, sem idade informada, foi diagnosticado com candidíase na cavidade nasal. O
235 animal tinha histórico de trauma. Na macroscopia foi encontrado material amarelado, espesso
236 e opaco na cavidade nasal. Na histopatologia, observou-se rinite linfoplasmocítica, associada
237 a leveduras e pseudo-hifas. Neste caso, não foi possível realizar a quantificação do agente por
238 ausência de material parafinizado.

239 O suíno, com seis meses de idade, veio a óbito devido à pneumonia por aspiração. Na
240 macroscopia, os cornetos nasais estavam avermelhados e com pequena quantidade de muco.
241 O pulmão apresentava-se pouco colapsado, com áreas avermelhadas e presença de material
242 líquido espumoso na traqueia. Ao corte, fluía material líquido, opaco e branco (pus) dos
243 brônquios. Na histopatologia, foram diagnosticadas rinite necrosante linfoplasmocítica e
244 pneumonia granulomatosa, associada à quantidade acentuada de leveduras, pseudo-hifas e
245 hifas. Além disso, havia grande quantidade de pseudo-hifas e hifas ao redor e no interior de
246 vasos sanguíneos, juntamente com fibrina.

247 *Infecções disseminadas*

248 Dois casos deste estudo foram classificados como infecção disseminada. O primeiro
249 caso ocorreu em um cão, de 11 anos e com doença neurológica. Na macroscopia, foram
250 encontrados nódulos amarelados na cavidade abdominal, linfonodos e rim. Na histologia, foi
251 observada inflamação necrossupurativa, associada à quantidade acentuada de leveduras,
252 pseudo-hifas e hifas. Pôde-se observar ainda, hifas e pseudo-hifas ao redor e no interior de
253 vasos sanguíneos com fibrina.

254 O segundo caso correspondeu a um gato, de um ano de idade, com pancreatite e
255 colângio-hepatite crônicas. Esse animal apresentava extensas áreas multifocais a coalescentes
256 de material branco-amarelado, macio a friável e opaco recobrindo órgãos abdominais e
257 torácicos. Não havia alterações macroscópicas no encéfalo. Na histopatologia, foram
258 observadas inflamação necrossupurativa e formação de piogranulomas nesses órgãos,
259 associados à quantidade acentuada de leveduras, pseudo-hifas e hifas. No encéfalo havia áreas
260 com malacia e infiltrado inflamatório linfoplasmocítico, associado a hifas intralésionais.

261

262

Discussão

263 A candidíase em animais e humanos é essencialmente uma infecção oportunista
264 (Giuffrida, 2016). Neste aspecto, ressalta-se a importância do status imunológico do
265 hospedeiro na instalação da infecção (Procop and Roberts, 2004). Neste estudo, a grande
266 quantidade de aves, cães, gatos e suínos menores de um ano de idade afetados pela candidíase,
267 pode ser explicada pela imaturidade do sistema imunológico de animais jovens (Pressler,
268 2015). Ao encontro deste resultado, pode-se observar que as principais doenças relacionadas
269 a candidíase em cães e gatos (ex: parvovirose, cinomose e infecção por FeLV,
270 respectivamente), correspondem epidemiologicamente ao que é estabelecido na literatura
271 (Pressler, 2015; Giuffrida, 2016; Alves et al, 2020). Contudo, em países como o Brasil, onde
272 doenças infecciosas (principalmente virais) estão entre as principais causas de morte para
273 animais de companhia (Bentubo et al, 2007, Fighera et al, 2008, Togni et al, 2018), evidenciar
274 a existência dessas coinfeções é importante, principalmente porque a candidíase pode agravar
275 o quadro clínico e contribuir para a morte dos animais (Rodriguez et al, 1998, Alves et al,
276 2020).

277 Quanto às aves, apesar do grande número de animais jovens afetados, a maioria dos
278 casos não teve uma doença concomitante (detectada na análise retrospectiva dos casos), o que
279 difere de grandes estudos retrospectivos, que mostram a candidíase relacionada a outras
280 doenças fúngicas ou bacterianas (Nemeth et al, 2016). Sugere-se então, uma possível
281 associação com outros fatores predisponentes aplicáveis as aves e não aos mamíferos
282 domésticos, como por exemplo, o alto consumo de açúcar advindo da dieta rica em frutas
283 (Doneley, 2016), visto que, é bem estabelecida a relação deste componente com a virulência
284 de espécies de *Candida* (Ende et al, 2019). Isso é reforçado pelo fato de que quase a metade
285 dos casos em aves, ser em psitacídeos, ordem na qual a candidíase é frequente e que em vida
286 livre tem frutos como base da dieta (Doneley, 2016).

287 Há divergências na literatura sobre o principal local de ocorrência dessa micose em
288 cães e gatos. Nos principais livros-texto internacionais, o sistema urinário é citado como
289 frequentemente acometido e o sistema alimentar (principalmente lesões gastrointestinais) não
290 é abordado como recorrente nas infecções por *Candida* spp. (Pressler, 2015, Uzal et al, 2016).
291 Contudo, na literatura nacional (Giuffrida, 2016) e neste estudo, infecções no sistema
292 alimentar estão entre as mais prevalentes. Isso poderia ser explicado pela baixa adesão aos
293 programas de vacinação de animais no Brasil, o que predispõe a doenças infecciosas (que
294 afetam o sistema alimentar, por exemplo) (Fighera et al, 2008, Togni et al, 2018) e,
295 conseqüentemente, à ocorrência de candidíase secundária. A baixa ocorrência de candidíase
296 no sistema urinário encontrada pode estar relacionada com a abordagem patológica deste
297 estudo, diferentemente de estudos clínicos que apresentam uma grande ocorrência no trato
298 urinário inferior, detectados por análises na urina (Pressler et al, 2003).

299 Neste estudo, no sistema alimentar, lesões típicas de candidíase como placas branco-
300 amareladas grumosas aderidas ou não as mucosas (Doneley, 2016; Uzal et al, 2016) foram
301 pouco frequentes em mamíferos e aves. A maioria das lesões macroscópicas encontradas
302 foram interpretadas como causadas pelas doenças concomitantes, principalmente em
303 mamíferos domésticos. Um exemplo disso são os casos de parvovirose com candidíase
304 secundária, onde a lesão intestinal foi descrita como mucosa rugosa e com presença de fibrina,
305 que são achados típicos dessa infecção viral (Uzal et al, 2016). Além disso, grande parte dos
306 casos de aves ocorreram no esôfago e não apresentaram alterações macroscópicas. De fato,
307 candidíase esofágica em aves pode ser de difícil reconhecimento e deve ser diferenciada de
308 outros agentes infecciosos (Charlton et al, 2008), o que corrobora com a dificuldade de
309 identificação dessa doença na macroscopia.

310 A presença de úlceras e erosões foi um achado frequente na análise macroscópica e
311 histopatológica dos sistemas alimentar e tegumentar de cães, gatos, suínos e ruminantes. A

312 associação de *Candida* spp. em lesões ulcerativas é bastante discutida em humanos, onde
313 geralmente a candidíase não é a causa primária da úlcera, porém agrava a lesão e retardada a
314 melhora clínica (Mlinaric-Missoni et al, 2005, Terai and Shimara, 2010). Isso pode ser
315 explicado pelo equilíbrio entre comensalismo e a doença ser tênue, onde qualquer dano à
316 mucosa pode favorecer a adesão das leveduras e sua conversão em formas filamentosas,
317 responsáveis pela liberação de enzimas líticas (Giuffrida, 2016; Gelberg, 2018). Isso pode ser
318 visto em um caso de mastocitoma em um cão e de uma proliferação fibrovascular em um
319 ovino, a presença de *Candida* sp. foi considerada secundária à úlcera de pele, alteração
320 comumente encontrada em neoplasmas de crescimento rápido, como o mastocitoma (Kiupel,
321 2017). Nos sistemas alimentar e tegumentar de aves, a ocorrência de hiperkeratose associada
322 a diferentes tipos inflamatórios foi recorrente, condição bem descrita para esta espécie
323 (Charlton et al, 2008), visto que a candidíase é uma doença principalmente de epitélio
324 ceratinizado (Uzal et al, 2016).

325 As infecções disseminadas cursaram principalmente com placas e nódulos branco-
326 amarelados e friáveis em diferentes órgãos, que são sugestivos, embora não específicos, de
327 lesões piogranulomatosas ou necrossupurativas, também descritas em outros casos de
328 infecções sistêmicas por *Candida* spp. (Helsentine et al, 2003; Brown et al, 2005; Gerding et
329 al, 1994). Além disso, a presença de vasculite e estruturas fúngicas no interior de vasos
330 sanguíneos, como visto em um caso de infecção disseminada em um cão e no sistema
331 respiratório de um suíno, demonstra a capacidade de invasão e disseminação hematogena
332 deste agente (Pressler, 2015). Quanto à ocorrência de candidíase disseminada em um gato,
333 um estudo detalhado deste caso será alvo de outra publicação.

334 Na histopatologia, a caracterização da quantidade e a morfologia de *Candida* spp. nos
335 tecidos afetados foi realizada em vista de que fungos dimórficos expressam genes de
336 virulência diferentes, dependendo da forma morfológica que se apresentam (Thompson et al,

337 2011). Além disso, poucos artigos científicos abordam esses critérios na histopatologia e
338 estabelecem comparações entre os sistemas acometidos, sendo a maioria em humanos
339 (Ásmundsdóttir et al, 2009; Guarner and Brandt, 2011). As leveduras têm capacidade de
340 colonizar superfícies, enquanto as hifas conseguem invadir tecidos e produzir enzimas líticas
341 que provocam necrose tecidual, lise de células inflamatórias e formação de biofilmes
342 (Thompson et al, 2011). Nos sistemas alimentar, tegumentar e nas infecções disseminadas, foi
343 possível observar essas características nos casos analisados. A maior parte dos casos que
344 tinham quantidade moderada ou acentuada de pseudo-hifas, principalmente em mamíferos,
345 corresponderam a maior dano tecidual e foi possível observar características de invasividade.

346 Apesar disso, vale ressaltar que em grande parte dos casos, todas as formas
347 morfológicas foram encontradas e principalmente no sistema tegumentar, há casos que foram
348 acometidos somente por leveduras, o que corrobora que leveduras também atuam ativamente
349 na instalação da infecção (Veses and Gow, 2009). Além disso, na análise comparativa entre
350 os sistemas alimentar e tegumentar observou-se diferenças significativas na quantidade de
351 agente envolvido nas infecções. Diferentemente do sistema alimentar, nos casos cutâneos, não
352 foram encontradas quantidades acentuadas do agente intralesional, tanto em mamíferos como
353 em aves. Esses achados vão ao encontro dos resultados discutidos anteriormente e pelo fato
354 de que em condições normais a levedura não é encontrada na pele, somente de modo
355 transitório, quando carregada a partir das mucosas ou em junções mucocutâneas (Giuffrida,
356 2016; Mauldin and Peters-Kennedy, 2016).

357 Os casos deste estudo foram confirmados por meio da avaliação morfológica do agente
358 intralesional (presença de leveduras, pseudo-hifas e/ou hifas) (Uzal et al, 2016), aliada às
359 técnicas histoquímicas (GMS e PAS) e de IHQ, quando possível. O exame histopatológico
360 apresenta até 95% de acurácia no diagnóstico de doenças fúngicas, contudo esse apresenta
361 algumas limitações, como o diagnóstico a nível de espécie (Kung et al, 2018). A técnica de

362 IHQ é amplamente utilizada para o diagnóstico de doenças fúngicas e oomicoses em animais
363 (Krockenberger et al, 2001; Nunes et al, 2006; Miranda et al, 2011; Martins et al, 2012). Além
364 disso, essa técnica já se mostrou eficaz no diagnóstico de candidíase em humanos (Marcilla
365 et al, 1999) e o uso de anticorpos monoclonais garante uma maior especificidade (Ramos-
366 Vara, 2005). Neste estudo, os tecidos testados foram positivos para *C. albicans*, espécie mais
367 isolada em animais e humanos (Pressler, 2015), com descrições em diversos sistemas
368 orgânicos (Sedeymousavi et al, 2018). Os casos em que não foi possível realizar a técnica de
369 IHQ foram incluídos de acordo com as características histomorfológicas do agente. Apesar
370 das limitações desta abordagem, em estudos em humanos de correlação entre morfologia
371 histológica e cultura micológica de fungos, o gênero *Candida* foi o que teve a melhor
372 convergência (Schofield et al, 2006), principalmente quando a histologia é aliada às técnicas
373 histoquímicas (Kung et al, 2018).

374 Dentre os principais diagnósticos diferenciais de candidíase em animais estão outras
375 infecções fúngicas como malasseziose, dermatofitose e aspergilose (Guarner and Brandt 2011,
376 Pressler, 2015, Kung et al, 2018). Essas podem ser diferenciadas de acordo com a morfologia
377 do agente na maioria dos casos. Porém, em situações em que há pouca quantidade fúngica, a
378 cultura micológica, a IHQ e as técnicas moleculares são necessárias para o diagnóstico
379 (Guarner and Brandt, 2011).

380 Com base neste estudo, pode-se concluir que a candidíase em animais ocorreu
381 principalmente nos sistemas alimentar e tegumentar e estava associada principalmente a
382 doenças virais. Foi possível observar que a candidíase em mamíferos domésticos e aves pode
383 ser de difícil reconhecimento macroscópico, o que vai ao encontro do estabelecimento de
384 métodos diagnósticos em tecidos parafinizados, como a IHQ. Neste estudo, a IHQ com
385 anticorpo monoclonal se mostrou eficaz no diagnóstico de candidíase em tecidos de cães,
386 gatos, suínos, bovinos, ovinos e diferentes ordens de aves.

387 **Agradecimentos**

388 Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
389 (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo
390 apoio financeiro. E. C. Lamego é bolsista do CNPq e P.H.S. Buttelli é bolsista da Fundação
391 de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS-PROBIC). G.D.
392 Kommers é bolsista de produtividade em pesquisa do CNPq (PQ # 307358/2020-8).

393

394 **Conflito de interesse:** os autores não declaram conflito de interesse.

395

Referências

396 Alves RC, Carneiro RS, Kommers GD, Souza AP, Galiza GJN, Dantas AFM (2020).

397 Candidose sistêmica em cães associada à cinomose. *Acta Scientiae Veterinariae*, **48**,
398 575.

399 Al-Yasiri MH, Normand AC, L'Ollivier C, Lachaud L, Bourgeois N, Rebaudet S, Piarroux

400 R, Mauffrey J, Ranque S (2016). Opportunistic fungal pathogen *Candida*

401 *glabrata* circulates between humans and yellow-legged gulls. *Scientific Reports*, **6**,

402 61757.

403 Ásmundsdóttir LR, Erlendsdóttir H, Agnarsson BA, Gottfredsson M (2009). The importance

404 of strain variation in virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*: results

405 of a blinded histopathological study in invasive candidiasis. *Clinical Microbiology*

406 *and Infection*, **15**, 576-585.

407 Bentubo HDL, Tomaz MA, Bondan EF, Lallo MA (2007). Expectativa de vida e causas de

408 morte em cães na área metropolitana de São Paulo (Brasil). *Ciência Rural*, **37**, 1021-

409 1026.

- 410 Brown MR, Thompson CA, Mohamed FM, 2005. Systemic candidiasis in an apparently
411 immunocompetent dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **17**, 272-276.
- 412 Casadevall A, Kantoyiannis DP, Robert V (2019). On the emergence of *Candida auris*:
413 climate change, azoles, swamps, and birds. *mBio*, **10**, 1-7.
- 414 Charlton RB, Chin RP, Barnes MJ (2008). Fungal infections. *Diseases of poultry*. 12th Edit.,
415 MY Saif., Ames, pp.1001-1004.
- 416 Chowdhary A, Sharma C, Meis JF (2017). *Candida auris*: a rapidly emerging cause of
417 hospital-acquired multidrug-resistant fungal infections globally. *Plos Pathogens* **13**,
418 1-10.
- 419 Doneley B. (2016). Diseases of alimentary tract. *Avian Medicine and Surgery in Practice*. 2th
420 Edit., B Doneley, Taylor & Francis Group, pp. 229.
- 421 Edelmann A, Kruger M, Schmid J. (2005). Genetic relationship between human and animal
422 isolates of *Candida albicans*. *Journal of Clinical Microbiology*, **43**, 6164-6166.
- 423 Ende MV, Wijnants S, Dijck PV (2019). Sugar sensing and signaling in *Candida albicans*
424 and *Candida glabrata*. *Frontiers in Microbiology*, **10**, 1-16.
- 425 Figuera RA, Souza TM, Silva CM, Brum JS, Graça DL, Kommers GD, Irigoyen LF, Barros
426 CSL (2008). Causas de morte e razões para eutanásia de cães da mesorregião do
427 Centro-Ocidental Rio-grandense (1965-2004). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **28**,
428 223-230.
- 429 Galiza, GNJ, Silva TM, Caprioli RA, Barros CSL, Irigoyen LF, Figuera RA, Lovato M,
430 Kommers GD (2014). Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230
431 casos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **34**, 224-232.
- 432 Gelberg HB (2018). Sistema digestório, peritônio, omento, mesentério e cavidade peritoneal.
433 In: *Bases da Patologia em Veterinária*, 6th Edit. JF Zachary, Elsevier, pp. 331.

- 434 Gerding PA, Morton LD, Dye JA (1994). Ocular and disseminated candidiasis in an
435 immunosuppressed cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*,
436 **204**, 1635-1638.
- 437 Giuffrida R (2016). Enfermidades pelo gênero *Candida*. In: *Doenças infecciosas em animais*
438 *de produção e companhia*. 1thEdit., J Megid, MG Ribeiro, AC Paes, Roca, Rio de
439 Janeiro, pp. 906-910.
- 440 Guarner J, Brandt ME (2011). Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st
441 century. *Clinical Microbiology Reviews*, **24**, 247-280.
- 442 Heseltine JC, Panciera DL, Saunders GK (2003). Systemic candidiasis in a dog. *Journal of*
443 *the American Veterinary Medical Association*, **223**, 821-824.
- 444 Jensen HE, Schonheyder HC, Hotchi M, Kaufman L (1996). Diagnosis of systemic mycoses
445 by specific immunohistochemical tests. *Journal of Pathology, Microbiology and*
446 *Immunology*, **104**, 251-258.
- 447 Kaufman L (1992). Immunohistologic diagnosis of systemic mycoses: an update. *European*
448 *Journal of Epidemiology*, **8**, 377-382.
- 449 Kiupel M (2017). Mast cell tumors. *Tumors in Domestic Animals*, 5th Edit., DJ Meuten, John
450 Wiley & Sons Inc., Ames, pp.176-202.
- 451 Krockenberger MB, Canfield PJ, Kozel TR, Shinoda T, Ikeda R, Wigney DI, Martin P,
452 Barnes K, Malik R (2001). An immunohistochemical method that differentiates
453 *Cryptococcus neoformans* varieties and serotypes in formalin-fixed paraffin-
454 embedded tissues. *Medical Mycology*, **39**, 523-533.

- 455 Kung VL, Chernock RD, Burnham CAD (2018). Diagnostic accuracy of fungal
456 identification in histopathology and cytopathology specimens. *European Journal of*
457 *Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, **37**, 157-165.
- 458 Marcilla A, Monteagudo C, Mormeneo S, Sentandreu R (1999). Monoclonal antibody 3H8:
459 a useful tool in the diagnosis of candidiasis. *Microbiology*, **145**, 695-701.
- 460 Martins TB, Kommers GD, Trost ME, Figuera RA, Schild AL (2012). A comparative study
461 of the histopathology and immunohistochemistry of pythiosis in horses, dogs and
462 cattle. *Journal of Comparative Pathology*, **146**, 122-131.
- 463 Mauldin EA, Kennedy PJ (2016). Integumentary System. In: *Jubb, Kennedy and Palmer's*
464 *Pathology of Domestic Animals*. 6th Edit., MG Maxie, Elsevier, Saint Louis. pp. 647-
465 649.
- 466 Miranda LHM, Quintella LP, Menezes RC, Dos Santos IB, Oliveira RVC, Figueiredo FB,
467 Lopes-Bezerra LM, Schubach TMP (2011). Evaluation of immunohistochemistry for
468 the diagnosis of sporotrichosis in dogs. *The Veterinary Journal*, **190**, 408-411.
- 469 Mlinaric-Missoni E, Kalenic S, Vukelic M, Syo D, Belicza M, Vazic-Babic V (2005).
470 Candida infections of diabetic foot's ulcers. *Diabetologia Croatica*, **34**, 29-35.
- 471 Nemeth NM, Gonzalez-Astudillo V, Oesterle PT, Howerth EW. A 5-year retrospective
472 review of avian diseases diagnosed at the Department of Pathology, University of
473 Georgia. *Journal Comparative Pathology*, **155**, 105-120.
- 474 Nunes J, Mackie JT, Kiupel M (2006). Equine histoplasmosis presenting as a tumor in the
475 abdominal cavity. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **18**, 508-510.
- 476 Pina PSS, Custódio M., Suguya NN, Sousa SCOM (2020). Histopathologic aspects of the
477 so-called chronic hyperplastic candidiasis: an analysis of 36 cases. *Journal of*
478 *Cutaneous Pathology*, **48**, 66-71.

- 479 Pressler BM (2015). Candidíase e Rodotorulose. *Doenças Infecciosas em Cães e Gatos*. 4th
480 Edit., CE Greene, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp.700-706.
- 481 Pressler BM, Vanden SL, Lane IF, Cowgill LD, Dye AJ (2003). *Candida spp.* urinary tract
482 infections in 13 dogs and seven cats: predisposing factors, treatment, and outcome.
483 *Journal of the American Animal Hospital Association*, **39**: 263-270.
- 484 Procop WG, Roberts DG (2004). Emerging fungal diseases: the importance of the host.
485 *Clinics in Laboratory Medicine*, **24**, 691-719.
- 486 Ramos-Vara JA (2005). Technical aspects of immunohistochemistry. *Veterinary Pathology*.
487 **42**, 405-426.
- 488 Rodríguez F, Fernandez A, de los Monteros A E, Wohlsein P, Jensen HE (1998). Acute
489 disseminated candidiasis in a puppy associated with parvoviral infection. *Veterinary*
490 *Record*, **142**, 434-436.
- 491 Schofield CM, Murray CK, Horvath EE, Cancio LC, Kim SH, Wolf SE, Hospentha DR
492 (2011). Correlation of culture with histopathology in fungal burn wound colonization
493 infections. *Burns*, **33**, 341-346.
- 494 Seyedmousavi S, Bosco SMG, Hoog S, Ebel F, Elad D, Gomes RR, Jacobsen ID, Jensen
495 HE, Martel A, Mignon B, Pasmans F, Piecková E, Rodrigues AM, Singh K, Vicente
496 VA, Wibbelt G, Wiederhold NP, Guilliot J (2018). Fungal infections in animals: a
497 patchwork different situations. *Medical Mycology* **56**, 165-167.
- 498 Terai H, Shimahara (2010). Chronic oral ulcer associated with *Candida*. *Mycoses*, **53**, 168-
499 172.
- 500 Thompson DS, Carlise PL, Kadosh D (2011). Coevolution of morphology and virulence in
501 *Candida* species. *Eukaryotic Cell*, **10**, 1173-1182.

- 502 Togni M, Curtis A, Vargas DP, Kommers GD, Irigoyen LF, Fighera RA (2018). Causas de
503 morte e razão para eutanásia em gatos na Região Central do Rio Grande do Sul
504 (1964-2013). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **38**, 741-750.
- 505 Uzal AF, Plattner LB, Hostetter MJ (2016). Alimentary system. In: *Jubb, Kennedy and*
506 *Palmer's Pathology of Domestic Animals*. 6th Edit., MG Maxie, Elsevier, Saint Louis.
507 pp. 202.
- 508 Veses V, Gow NAR (2009). Pseudohypha budding patterns of *Candida albicans*. *Medical*
509 *mycology*, **47**, 268-272.

Tabela 1
Infecções por *Candida* spp. no sistema alimentar de aves

<i>Caso</i>	<i>Ordem/Idade</i>	<i>Órgão</i>	<i>Doença Concomitante (DC)</i> £	<i>Macroscopia</i>	<i>Diagnóstico Morfológico</i>	<i>Quantidade e Morfologia fúngica</i>
1	PC/1 mês	Língua	Sem DC	NI	Hiperkeratose difusa	L, PH*
2	PC/NI	Língua	Bouba aviária	Placas brancocentas	Glossite proliferativa e vacuolar	M (L, PH) ∞
3	G/1 mês	Esôfago	Sem DC	S/A	Hiperkeratose multifocal	M (L, PH)
4	P/NI	Esôfago	Impactação alimentar	NI	Esofagite erosiva e heterofílica	A (L, PH, H)
5	G/NI	Esôfago	Colibacilose	S/A	Hiperkeratose multifocal	M (L, PH)
6	A/1 mês	Esôfago	Sem DC	S/A	Hiperkeratose multifocal	M (L, PH) †
7	PC/NI	Esôfago	Sepse	S/A	Hiperkeratose multifocal	L, PH*
8	PC/7 anos	Esôfago	Sem DC	NI	Esofagite heterofílica	L, PH*
9	PC/1 ano	Esôfago	Sem DC	S/A	Esofagite heterofílica e hiperkeratose multifocal	L, PH*
10	PC/2 meses	Inglúvio	Sem DC	Dilatação	Hiperkeratose difusa	M (L, PH)
11	PC/NI	Inglúvio	Sem DC	Sem alterações	Ingluvite mista	M (L, PH)
12	PC/NI	Inglúvio	Sem DC	Espessamento da parede	Hiperkeratose multifocal	Lv (L)
13	P/5 dias	Ventrículo	Sem DC	NI	Ventriculite necrosante e linfoplasmocítica	A (L, PH, H) ^α
14	R/NI	Ventrículo	Sem DC	NI	Hiperkeratose multifocal	L, PH*
15	R/NI	Ventrículo	Colibacilose	Úlcera focalmente extensa	Ventriculite heterofílica	L, PH*
16	R/10 dias	Intestino delgado	Sem DC	Mucosa avermelhada	Enterite linfo-histiocítica	M (PH, H)

£ Possíveis fatores predisponentes para candidíase, ∞ Caso com infecção por *Candida* sp. concomitante no sistema tegumentar, † Caso com infecção por *Candida* sp. concomitante no sistema cardiovascular, R= Rheiforme, P = Passeriforme, G = galináceo, A= anseriforme, PC= psitacédeo, ^α= invasão transmural, Lv = leve, M = moderada, A = acentuada, L = levedura, PH = pseudo-hifa, H = hifa, NI=não informado. *Casos em que não foi possível realizar a quantificação do agente intralesional. S/A = sem alterações.

Tabela 2

Infecções por *Candida* spp. no sistema alimentar de cães e gatos

Caso	Espécie/ Idade	Órgão	Doença Concomitante (DC) [‡]	Macroscopia	Diagnóstico Morfológico	Quantidade e Morfologia fúngica
1	C/6 anos	Mucosa oral	Sem DC	Nódulo ulcerado	Estomatite necrosante linfoplasmocítica	M (L, PH)
2	C/1 mês	Mucosa oral	Sem DC	Úlcera focalmente extensa	Estomatite ulcerativa e neutrofilica	A (L, PH)
3	C/3 meses	Esôfago	Cinomose	Mucosa recoberta por material grumoso branco	Esofagite fibrinonecrótica	L, PH*
4	C/3 meses	Esôfago	Cinomose	Mucosa recoberta por material grumoso branco	Esofagite fibrinonecrótica	L, PH*
5	C/1 mês	Esôfago	Parvovirose	Úlceras multifocais	Esofagite fibrinonecrótica	M (L, PH)
6	C/10 meses	Esôfago	Megaesôfago	Dilatação esofágica	Esofagite linfohistiocítica	PH*
7	C/8 anos	Estômago	Hiperadrenocorticismismo	Sem alterações	Gastrite erosiva e neutrofilica	A (L, PH, H)
8	C/7 anos	Estômago	Linfoma angiocêntrico	Erosões multifocais	Gastrite erosiva	L, PH*
9	C/9 anos	Estômago	Leptospirose	Presença de conteúdo líquido avermelhado	Gastrite erosiva	L, PH*
10	C/NI	Estômago	Sem DC	Sem alterações	Gastrite erosiva	L, PH*
11	C/3 meses	Intestino delgado	Parvovirose	Mucosa rugosa recoberta por fibrina	Enterite fibrinonecrótica	M (L, PH, H)
12	C/1 mês	Intestino delgado	Parvovirose	Presença de conteúdo vermelho-enechado	Enterite fibrinonecrótica	M (L, PH)
13	C/2 meses	Intestino delgado	Parvovirose	Sem alterações	Enterite fibrinonecrótica	A (L, PH, H)
14	C/2 meses	Intestinos delgado e grosso	Parvovirose	Mucosa rugosa recoberta por fibrina	Enterite fibrinonecrossupurativa	A (L, PH, H)
15	G/6 anos	Língua	Doença renal crônica/Uremia	Úlcera recoberta por fibrina	Glossite fibrinonecrótica	L, PH*

[‡] Possíveis fatores predisponentes para candidíase, C = cão, G = gato, NI = não informado, Lv = leve, M = moderada, A = acentuada, L = levedura, PH = pseudo-hifa, H = hifa. *Casos em que não foi possível realizar a quantificação do agente intralesional.

Tabela 3

Infecções por *Candida* spp. no sistema alimentar de suínos e ruminantes

<i>Caso</i>	<i>Espécie/ Idade</i>	<i>Órgão</i>	<i>Doença Concomitante (DC) [‡]</i>	<i>Macroscopia</i>	<i>Diagnóstico Morfológico</i>	<i>Quantidade e Morfologia fúngica</i>
1	S/1 mês	Esôfago	Enterite traumática (por fibra)	Mucosa elevada com material amarelado	Esofagite mista	Lv (L)
2	S/2 meses	Estômago	Sepse	Erosões multifocais Úlcera	Gastrite erosiva	A (L, PH)
3	B/1 ano	Língua	Fotossensibilização primária	focalmente extensa branco Mucosa recoberta por material grumoso branco	Glossite ulcerativa	L*
4	O/1 mês	Rúmen	Sem DC		Esofagite fibrinonecrótica	A (L, PH)

[‡] Possíveis fatores predisponentes para candidíase, S = Suíno, B = Bovino, O = Ovino, Lv = leve, A = acentuada, L = levedura, PH = pseudo-hifa, H = hifa. *Casos em que não foi possível realizar a quantificação do agente intralesional.

Tabela 4

Infecções por *Candida* spp. no sistema tegumentar de aves

<i>Caso</i>	<i>Ordem/ Idade</i>	<i>Órgão</i>	<i>Doença Concomitante (DC) ‡</i>	<i>Macroscopia</i>	<i>Diagnóstico Morfológico</i>	<i>Quantidade e Morfologia fúngica</i>
1	PC/NI	Periocular e asas	Bouba aviária	Nódulos amarelados e crostas	Dermatite proliferativa linfoplasmocítica	Lv (L)
2	P/1 ano	Membros posteriores	Sem DC	NI	Dermatite heterofílica e linfocítica com hiperceratose	M (L, PH)
3	P/1 ano	Membros posteriores	Sem DC	NI	Dermatite heterofílica e linfocitária com hiperceratose	M (L, PH)
4	P/2 anos	Dígito	Sem DC	Crostas	Dermatite linfocítica e heterofílica com hiperceratose	Lv (L)
5	P/NI	NI	Sem DC	Crostas e descamações	Dermatite proliferativa e heterofílica	Lv (L)
6	PC/NI	NI	Doença do bico e das penas	Penas quebradiças e crostas	Hiperceratose multifocal	Lv (L)
7	S/1 mês	NI	Sem DC	NI	Dermatite proliferativa com hiperceratose	M (PH, H)

‡Possíveis fatores predisponentes para candidíase, S= Struthioniformes, P = Passeriforme, PC= psitacídeo, NI = não informado, Lv = leve, M = moderada, L = levedura, PH = pseudo-hifa, H = hifa.

Tabela 5

Infecções por *Candida* spp. no sistema tegumentar de cães e gatos

<i>Caso</i>	<i>Espécie/ Idade</i>	<i>Órgão</i> [¥]	<i>Doença Concomitante (DC) [£]</i>	<i>Macroscopia</i>	<i>Diagnóstico Morfológico</i>	<i>Quantidade e Morfologia fúngica</i>
1	C/5 meses	Junção muco cutânea [¥]	Cinomose	Alopecia	Dermatite ulcerativa e fibrinosa	Lv (L)
2	C/NI	NI	Cinomose	Úlceras, crostas e alopecia	Dermatite fibrinonecrosupurativa	M (L, PH)
3	C/2 meses	Pavilhão auricular	Parvovirose	Úlceras	Dermatite erosiva e mista	Lv (L)
4	C/13 anos	Região perianal	Hiperadrenocorticismo	Úlceras	Dermatite ulcerativa	M (L, PH)
5	C/4 anos	Região cervical dorsal	Mastocitoma	Úlcera e crostas brancacentas	Dermatite ulcerativa e neutrofílica	Lv (L)
6	C/7 meses	Coxins dianteiros	Cinomose	Hiperkeratose	Acantose e hiperkeratose	M (L, PH)
7	G/NI	Região abdominal ventral	Infecção por FeLV	Úlceras e crostas brancacentas	Dermatite fibrinonecrosupurativa	M (L, PH)

[£] Possíveis fatores predisponentes para candidíase [¥] Cavidade nasal e oral, C = cão, G = gato, NI= não informado, Lv = leve, M = moderada, L = levedura, PH = pseudo-hifa, H = hifa.

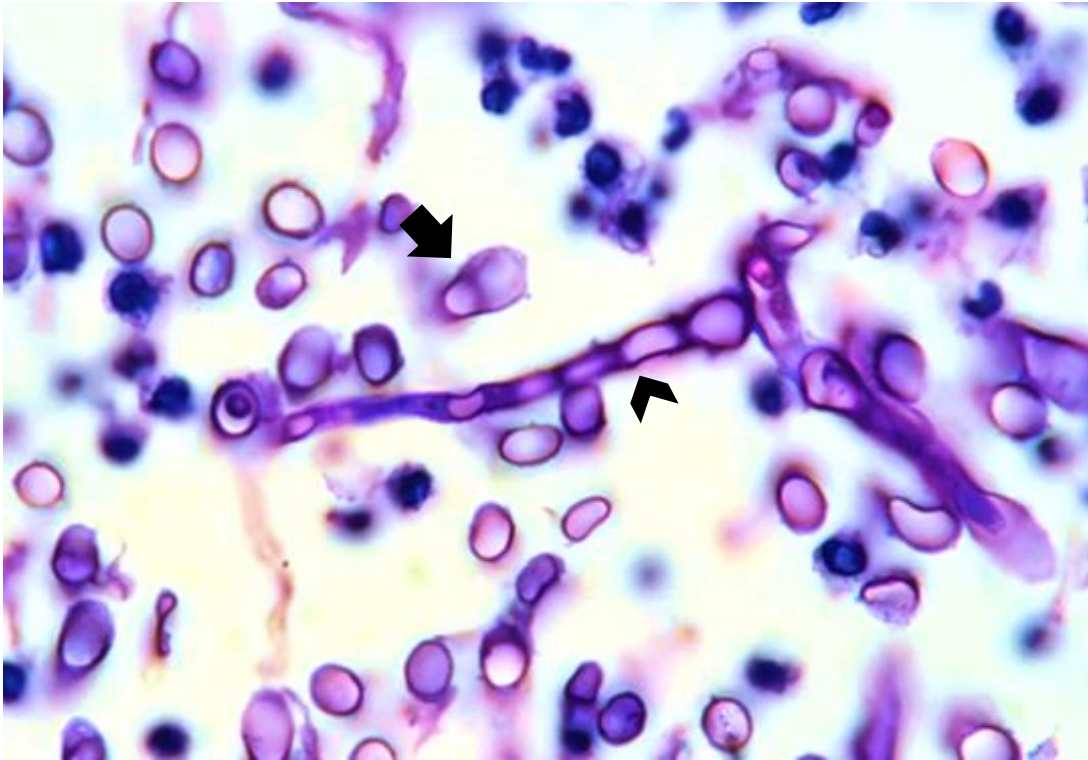


Fig 1. Gato, omento. Há numerosas leveduras basofílicas arredondadas de 4 a 8 μm de diâmetro, por vezes, apresentando brotamentos (seta). No centro da imagem observa-se pseudo-hifa elipsoidal de 4 a 8 μm de diâmetro e 40 μm de comprimento contendo constrictões (cabeça de seta). (Hematoxilina e eosina; 100x).

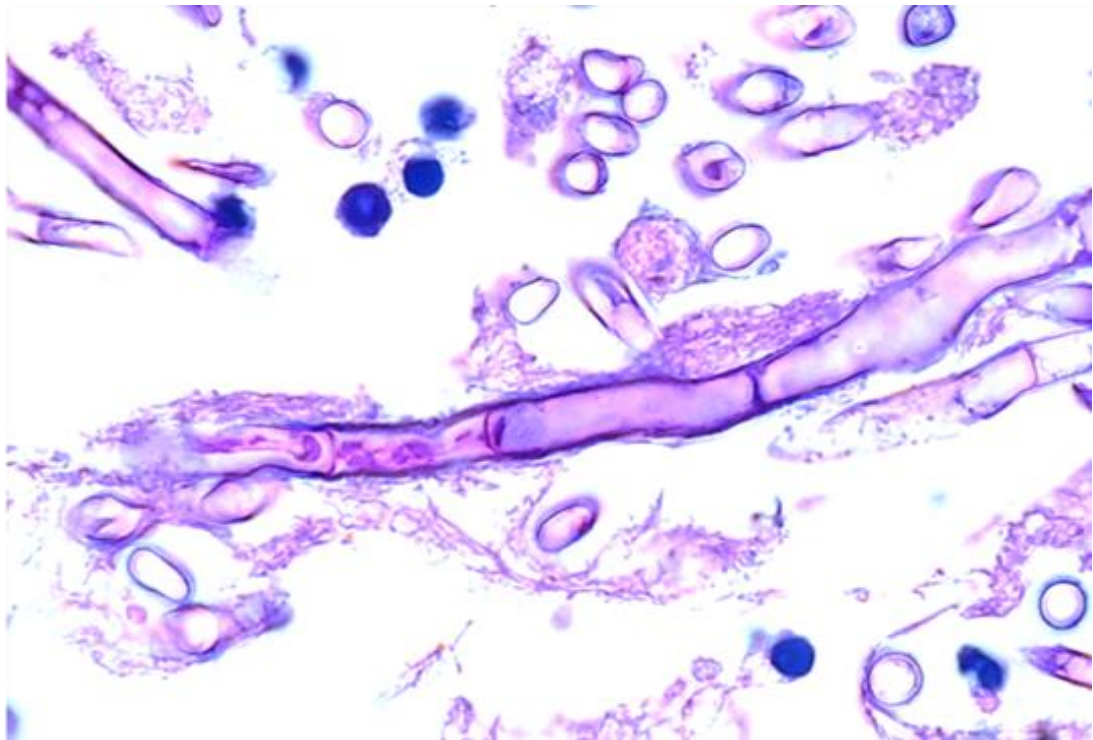


Fig 2. Gato, omento. No centro da imagem há hifa basofílica septada de paredes paralelas com 10 μm de diâmetro e 90 μm de comprimento. (Hematoxilina e eosina; 100x).

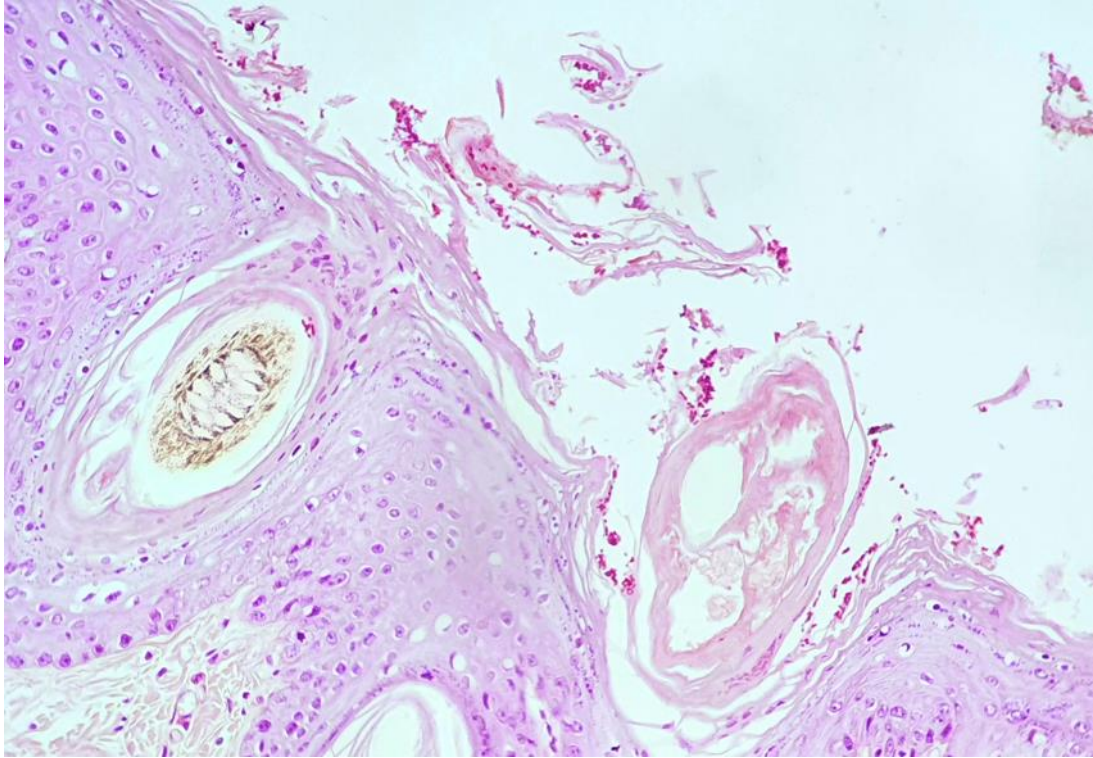


Fig 3. Cão, pele. Observa-se quantidade leve de leveduras levemente eosinofílicas na superfície epidérmica juntamente com hiperqueratose ortoceratótica multifocal leve. (Ácido periódico de Schiff; 20x).

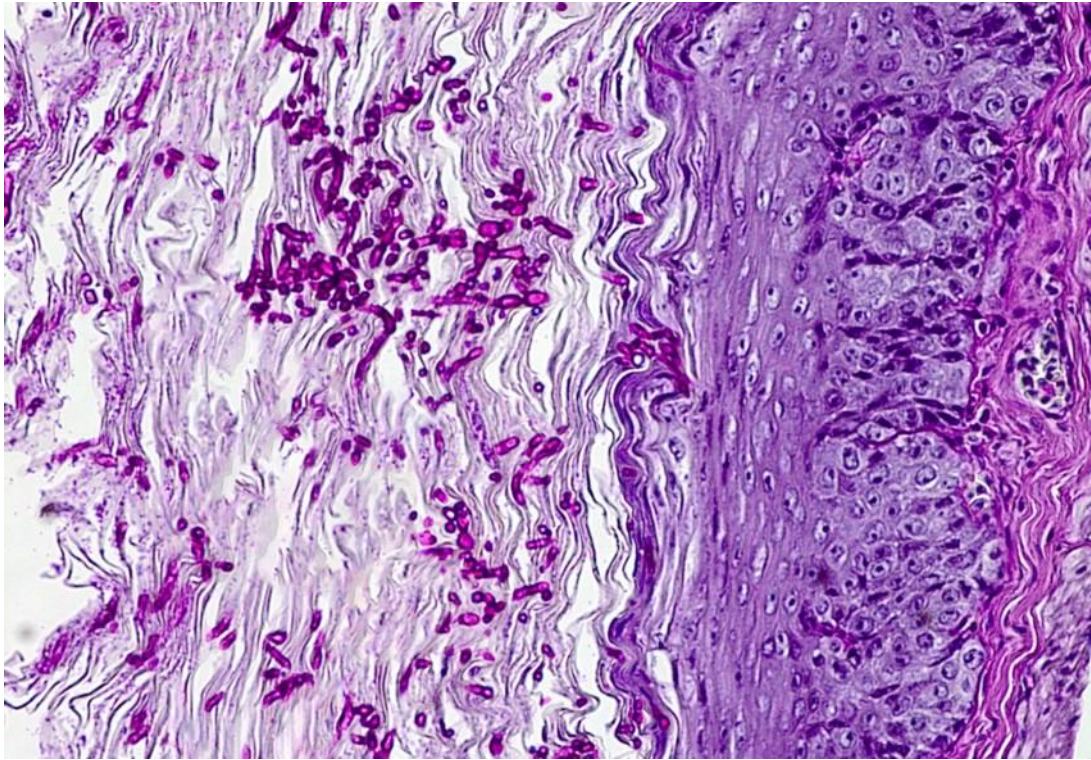


Fig 4. Ave, pele. Observa-se quantidade moderada de leveduras e pseudo-hifas na superfície epidérmica juntamente com hiperqueratose ortoceratótica difusa acentuada. (Ácido periódico de Schiff; 40x).

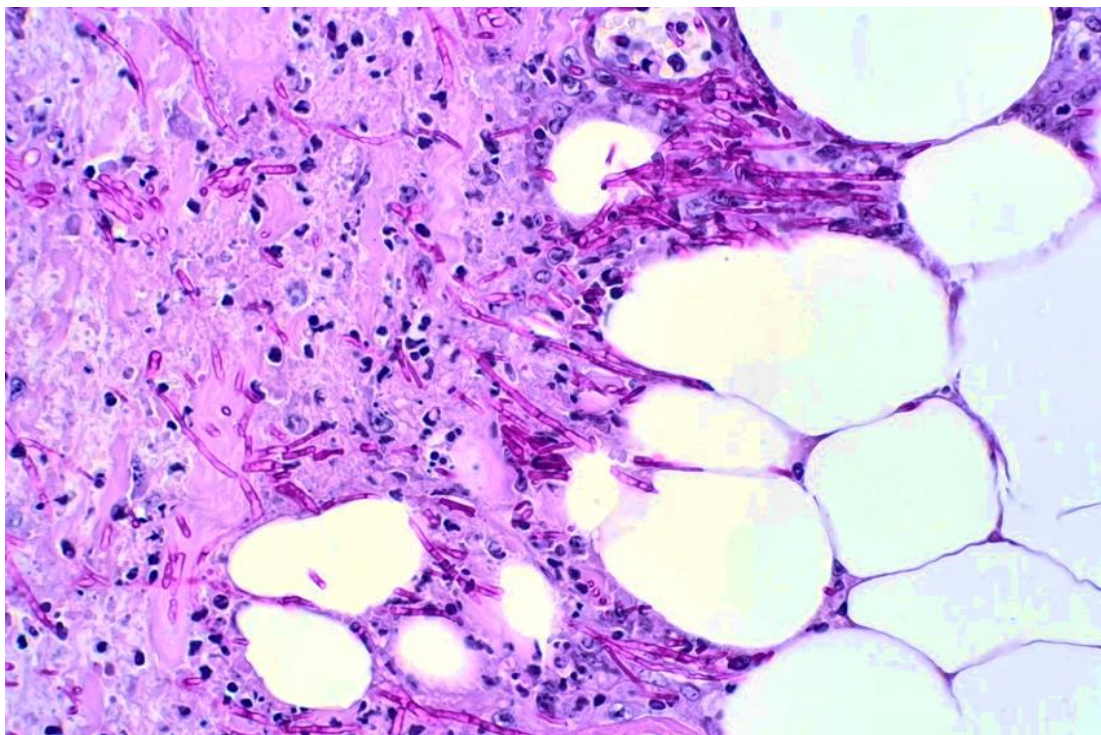


Fig 5. Bovino, coração (pericárdio). Observa-se quantidade acentuada de leveduras, pseudo-hifas e hifas, juntamente com infiltrado inflamatório piogranulomatoso. (Ácido periódico de Schiff; 40x).

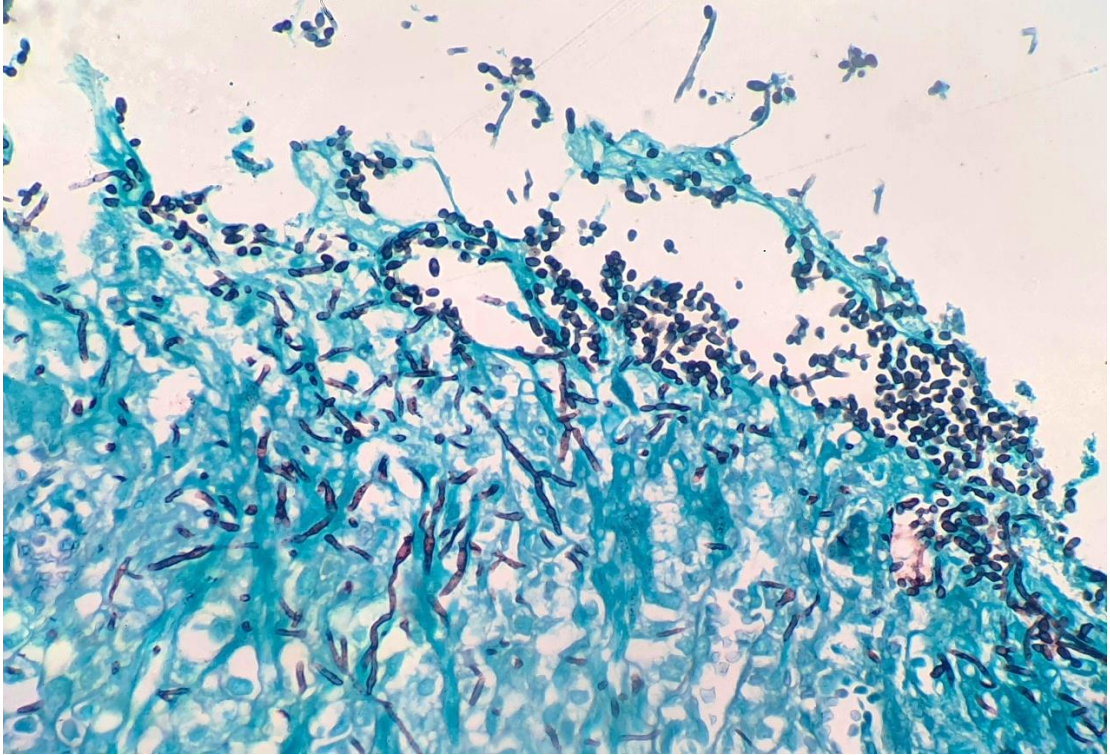


Fig 6. Cão, intestino delgado. Observa-se quantidade acentuada de leveduras, pseudo-hifas e hifas em preto recobrendo a mucosa e invadindo a lâmina própria. (Impregnação pela prata de Grocott; 40x).

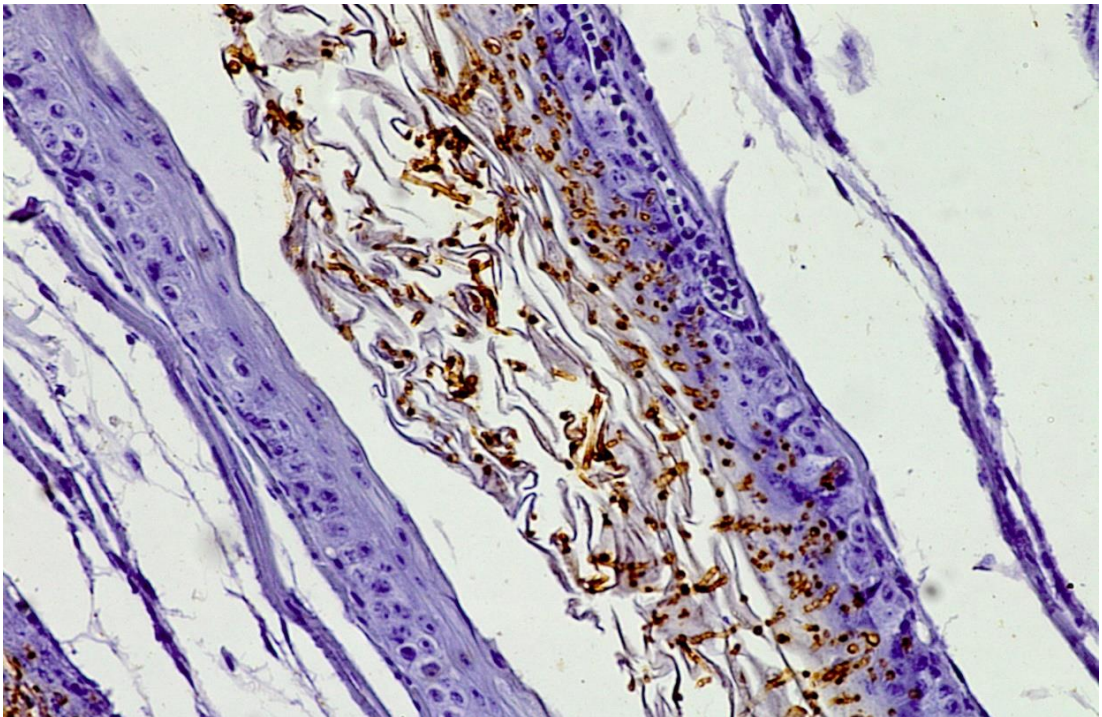


Fig 7. Ave, pele. Observa-se quantidade moderada de leveduras e pseudo-hifas imunomarcadas com anticorpo monoclonal anti-*Candida albicans*. (IHQ, método por polímero-HRP; 40x).

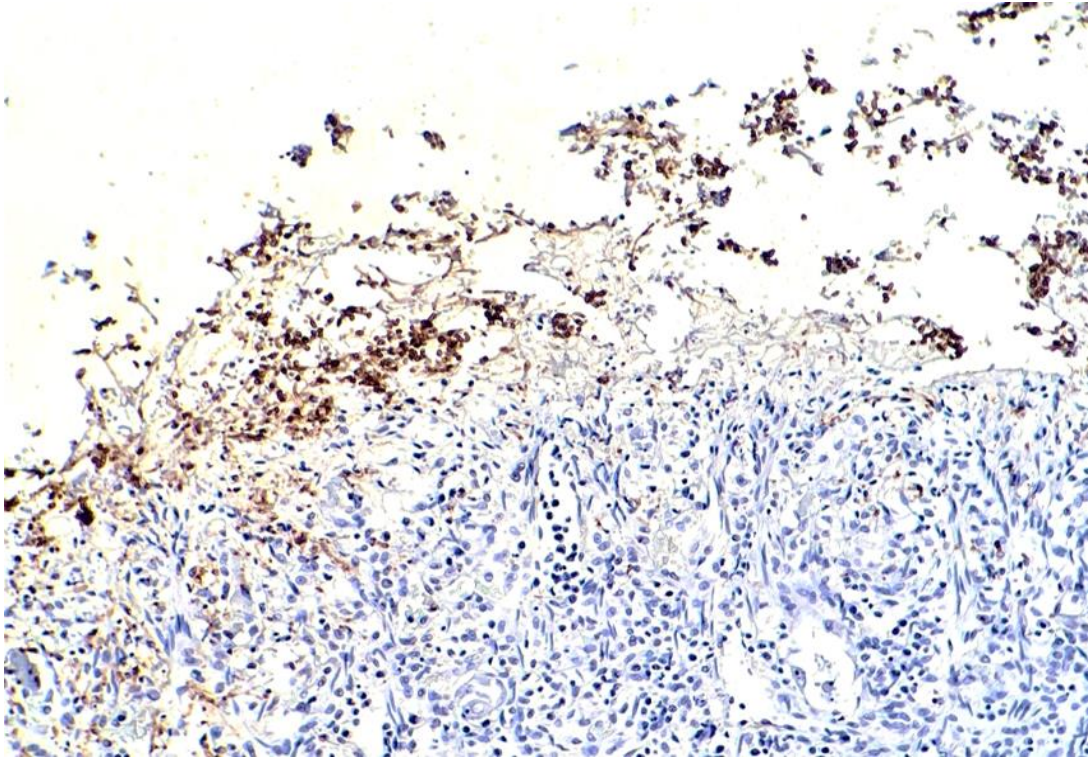


Fig 8. Cão, intestino delgado. Observa-se quantidade acentuada de leveduras, pseudo-hifas e hifas imunomarcadas com anticorpo monoclonal anti-*Candida albicans* (IHQ, método por polímero-HRP; 20x).

4 ARTIGO 2 – DISSEMINATED CANDIDIASIS IN A CAT

Artigo a ser submetido à revista *Topics in Companion Animal Medicine*.

DISSEMINATED CANDIDIASIS IN A CAT: CASE REPORT

Éryca Ceolin Lamego¹, Eduardo Kenji Masuda¹, Pedro Henrique Salini Buttelli², Luíza Müller Eisenhardt², Alex dos Santos¹, Glaucia Denise Kommers^{3*}

¹Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), ²Curso de Medicina Veterinária, ³Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brazil.

Correspondence to: G.D Kommers [glaukommers@yahoo.com]. Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde, UFSM, Av. Roraima nº 1000 (Prédio 97B), CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brazil.

Abstract

A 14-month-old, mixed-breed, male cat was referred to a clinic with emesis and anorexia. Laboratory tests revealed dehydration, leukocytosis due to neutrophilia, and azotemia. On ultrasound, chronic pancreatitis and cholangiohepatitis were diagnosed. The animal was submitted to necropsy at the Laboratório de Patologia Veterinária of the Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM). At the opening of the abdominal cavity, there were 60 ml of golden yellow fluid (modified transudate) and all the organs were covered by yellow fibrinous material. Inside of thoracic cavity, in the intercostal region, lung, and heart there were yellowish areas with an irregular surface and sometimes nodules with the same characteristics. Samples were submitted for histopathological examination, which revealed pyogranulomas or necrossuppurative infiltrate associated with numerous yeasts, pseudohyphae, and hyphae in the omentum, intestinal serosa, liver, lung, intercostal muscle, heart, kidneys, and brain. In the pancreas, marked lymphoplasmacytic and fibrosing pancreatitis was observed. Selected sections were stained by periodic acid Schiff (PAS) and Grocott's methenamine silver (GMS) techniques. Immunohistochemistry (IHC) technique with anti-*Candida albicans* monoclonal antibody was used to confirm the etiology. With this report, it was possible to conclude that disseminated candidiasis may occur in immunosuppressed cats (due to chronic pancreatitis and prolonged antibiotic and corticosteroid therapy in this case) and that the histopathological examination combined with immunohistochemistry are effective techniques for the diagnosis of this condition.

Keywords: mycosis, systemic, feline, immunohistochemistry.

Introduction

Candida spp. are commensal yeasts that inhabit the mucosa of the alimentary, respiratory, and genital tracts of humans and animal species [1]. These microorganisms migrate from the

commensal to the pathogenic state due to the combination of immunosuppressive factors of the host, the expression of virulence genes of the agent [2], and inciting alterations in the normal bacterial flora of the mucous membranes [3]. Thus, it is well established in the literature that candidiasis is an opportunistic infection [1,2]. Recently, due to the pandemic caused by the SARS-COV-2, secondary infections, among them by the *Candida* genus, have gained prominence, as they actively act to worsen the prognosis of the affected patients [4,5].

Candidiasis is the most common fungal infection in humans [6] and is among the most frequent ones diagnosed in animals [7, 8]. Despite this, disseminated infections by *Candida* spp. in companion animals are infrequent [1,2], where most of the literature is restricted to dogs [9,10,11] with rare reports in cats [12]. Therefore, the aim of this report is to describe the predisposing factors, clinical, macroscopic, histopathological, and immunohistochemical findings of a case of disseminated candidiasis in a cat.

Case presentation

A 14-month-old, mixed-breed, male cat was referred to a clinic with emesis and anorexia. On clinical examination, the mucous membranes were pale and there was a cough reflex. A complete blood count was performed. The main findings were as follows: dehydration (hematocrit 49%; reference value: 31-48% and plasma protein 10.4 g/dL; reference value: 5.8-7.5 g/dL), leukocytosis (23,100 μ L; reference value: 5,100-16,200 μ L) by neutrophilia (20,559 μ L; reference value: 2,300-11,600 μ L), with presence of hypersegmented neutrophils. Biochemical examination revealed azotemia (creatinine 2.6 mg/dL; reference value: 0.8-2.1 mg/dL and urea 134 mg/dL; reference value: 17-35 mg/dL). Serological tests for FeLV or FIV infections were not performed. Chronic pancreatitis and cholangiohepatitis were diagnosed by ultrasound. Treatment with antibiotics, corticosteroids, and fluid therapy was given for one week; however, without clinical improvement. Due to the poor prognosis, the patient was submitted to euthanasia.

The cat was sent to the Laboratório de Patologia Veterinária of the Universidade Federal de Santa Maria (LPV-UFSM) for necropsy. On external examination, the cat was in poor body condition and there was moderate jaundice in the mucous membranes and subcutaneous tissue. At the opening of the abdominal cavity, there was 60 ml of yellow-gold, viscous, moderately cloudy fluid with fibrin strands. All the abdominal organs were covered by fibrin (fibrinous peritonitis) (Figure 1). The omentum was markedly thickened, friable, with white irregular areas and a granular appearance (fat necrosis). The pancreas was firm, partially adherent to adjacent tissues and organs, with multiple and extensive areas of peripancreatic fat necrosis. There were also erosions and ulcers of the gastric mucosa.

Inside the thoracic cavity, in the intercostal muscle (between the first and second ribs on the left side), there was a nodular yellow (with a gray center) lesion. In the left caudal lobe of the lung, there was a nodule measuring 0.8 cm, from which yellow and viscous fluid flowed on the cut surface. At the opening of the pericardial sac, there were elevated, moderately delimited, yellow, and slightly translucent nodules, which extended from the epicardium to the myocardium in the cardiac apex, right atrium, and left atrium-ventricular region (Figure 2).

Organ samples were fixed in 10% neutral formalin, routinely processed for histopathology, and stained with hematoxylin and eosin (HE). On histopathological examination, the omentum and intestinal serosa had marked necrosis, with multifocal mineralization, a large amount of degenerated neutrophils, fibrin, and mild multifocal fibrosis. In addition, there were multiple foci with numerous basophilic yeasts (round to oval, 3 to 8 μm in diameter, with budding), basophilic pseudohyphae (elongated, ellipsoid, with constrictions, ranging from 20 to 30 μm in length and 5 to 10 μm in diameter), and basophilic hyphae (with parallel walls and rare septations, 50 to 70 μm in length and up to 12 μm in diameter) (figure 3).

In the liver, lung, and intercostal muscle there were multiple random areas of neutrophilic inflammatory infiltrate, surrounded by epithelioid macrophages and multinucleated giant cells (pyogranulomas). In the heart (myocardium and endocardium) coalescing foci of moderate neutrophilic inflammatory infiltrate were observed, associated with yeasts and pseudohyphae, with extensive areas of cardiomyocyte necrosis. In some areas, multiple foci of subepicardial mineralization were also observed.

The same fungal organisms were also observed in the renal glomeruli and tubules, which had a large number of neutrophils in the Bowman's spaces (suppurative glomerulitis), with necrotizing and pyogranulomatous tubulointerstitial nephritis. In the brain, random areas of pyogranulomatous inflammatory infiltrate were observed, with multinucleated giant cells associated with intact and fragmented hyphae and pseudohyphae. In the pancreas, marked lymphoplasmacytic and fibrosing chronic pancreatitis was diagnosed.

Selected sections were stained by periodic acid Schiff (PAS) (Figure 4) and Grocott's methenamine silver (GMS) stains. Yeasts, pseudohyphae, and hyphae were positive for both stains. To confirm the agent, the immunohistochemistry (IHC) technique was used with an anti-*Candida albicans* mouse monoclonal antibody (clone A97H; Invitrogen) (Figure 5), according to the protocol described below. Antigen retrieval was achieved by microwaving (10 min at full power) in TRIS-EDTA pH 9.0. To block nonspecific reactions, a protein blocker (EasyLink One Kit) was used for 10 min. Sections were incubated with the primary antibody (1:40 dilution in PBST) overnight for 18 hours at 4°C. A polymer-HRP system (EasyLinkOne-HRP, EP-12-20502, EasyPath) was used (at RT for 30 min), followed by substrate development with 3,3'-diaminobenzidine (DAB; EasyPath). Counterstaining was with Harris hematoxylin. As a negative control, a section of the analyzed tissues was used and incubated with PBTS. As a positive control, a tissue sample from a case of candidiasis by *C. albicans* in a dog, confirmed by mycological culture, PCR, and DNA sequencing, was used.

Discussion

There are reports of infections by *Candida* spp. in cats as a cause of granulomatous rhinitis [13], pyothorax [14], intestinal granuloma [15], and cholecystitis [16]. However, the widespread involvement of this infection in felines, as seen in this case, is rarely reported in the literature [12]. The morphological and histochemical characteristics of *Candida* spp. are demonstrated in most of these scientific articles. However, the detection of the agent through IHC with the use of a monoclonal antibody is a highlight of this present report.

Mycological culture is the gold standard test for the diagnosis of *Candida* spp. infections [17]. On the other hand, histopathological examination allows for a quick and cost-effective presumptive diagnosis for fungal infections, as it gives the total evaluation of the tissue and provides additional information, such as invasion, inflammation, and chronicity [18]. In the routine of veterinary pathology laboratories, fungal infections, in general, are often diagnosed only at the time of the histopathological examination [7], when the samples are already fixed in formalin, which makes the mycological diagnosis unfeasible.

Thus, the immunohistochemistry technique is a widely used tool for the confirmation of fungal agents and oomycetes in animal tissues [19, 20, 21]. A human study showed that in specimens with positive mycological examinations, the accuracy of the histopathological diagnosis in identifying fungi is 95% accurate and most cases were infections by *Candida* spp. [18]. So, the association of these two techniques was an accurate way of diagnosing candidiasis in this cat.

As in humans and dogs, disseminated candidiasis in cats is associated with immunosuppressive factors [2]. Among these are chronic diseases in general, the use of long-term therapies (antibiotics, corticosteroids, and chemotherapy), and infections by FIV or FeLV [15,16]. In this cat, immunosuppression is thought to be related to chronic pancreatitis and prolonged antibiotic and corticosteroid therapy. However, infections by *Candida* spp. are among the main

mycological findings of cats with FIV [23] and, in this patient, infection by this virus could not be ruled out because tests for these viral infections have not been performed.

Although *Candida* spp. being a commensal inhabitant of the GI mucosa of animals, histological evidence of tissue invasion by the agent is not seen in healthy animals, which indicates migration from the commensal to the pathogenic state [22]. The spreading to different organs of the abdominal and thoracic cavities, as well as to the brain in this cat, could be explained by the ability of the fungus to invade hematogenously (it is protected by a platelet mantle in the bloodstream) and due to the multinucleated giant cells, which house and transport the fungal organisms between the several sites [1,2]. Furthermore, it is known that *Candida* spp. are responsible for the formation of biofilms and have carbohydrate adhesion molecules that facilitate epithelial damage and tissue invasion by hyphae, which promotes the persistence of the infection [1]. Such dissemination leads to the formation of plaques, microabscesses, and disseminated pyogranulomas in several organs, as was observed in this cat.

Unlike infections by *Candida* spp., systemic mycoses in cats such as cryptococcosis, histoplasmosis, sporotrichosis, and blastomycosis are well established and should be considered as differential diagnoses [24]. The occurrence of these diseases varies geographically and there are significant fungal morphological features that differ from *Candida* spp. [25] Cryptococcosis is the most common systemic mycosis in cats. This agent is a round yeast of approximately 3 to 8 μm , surrounded by a clear, unstained halo (mucopolysaccharide capsule) of 15 to 20 μm [19, 25, 26]. Despite having a primarily cutaneous presentation, feline sporotrichosis can sometimes be disseminated. *Sporothrix* spp. are round to elongated yeasts, with 2 to 8 μm , without filamentous forms [27].

Histoplasma capsulatum is the main agent of histoplasmosis in cats and it is observed as round yeasts, with 2 to 5 μm , slightly basophilic and surrounded by a thin clear halo; it is usually intrahistiocytic. [28]. Blastomycosis is a disease that occurs mainly in North America and, in

animal tissues, the morphology corresponds to spherical yeasts, ranging from 5 to 20 μm , surrounded by a double cell wall [25].

Thus, we conclude that despite being uncommon, local or disseminated infections by *Candida* spp. should be considered in immunosuppressed cats, as they worsen the clinical condition and can significantly contribute to a worse prognosis, as observed in this cat. In addition, histopathological examination combined with immunohistochemistry are effective alternative tools for the diagnosis of candidiasis, especially when there is no possibility of mycological culture.

Acknowledgments. The authors would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for the financial support. E. C. Lamego has a scholarship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and P.H.S. Butteli has a scholarship from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS-PROBIC). G.D. Kommers has a fellowship from CNPq (PQ#307358/2020-8).

Credit statement. All authors have approved the manuscript and agree with submission to Topics in Companion Animal Medicine. The authors have no conflicts of interest to declare.

References

- [1] Giuffrida R. 2016. Enfermidades pelo gênero *Candida*. In: Megid J., Ribeiro M. G. & PAES A. C. (Eds). Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. 1.ed. Rio de Janeiro: Roca, pp. 906-910.
- [2] Pressler B. M. 2015. Candidíase e Rodotorulose. In: Greene C. E. (Ed). Doenças infecciosas em cães e gatos. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, pp.700-706.

- [3] Bertolini M., Ranjan A., Thompson A., Diaz P. L., Sobue T., Maas K. & Dongari-Bagtzoglou A. 2019. *Candida albicans* induce mucosal bacterial dysbiosis that promotes invasive infection. PLoS Pathogens. 15(4): e1007717. DOI: 0.1371/journal.ppat.1007717.
- [4] Arastehfar A., Carvalho A., Nguyen M. H., Hedayati M. T., Netea M. G., Perlin D. S. & Hoenigl M. 2020. COVID-19-Associated candidiasis (CAC): an underestimated complication in the absence of immunological predispositions? Journal of Fungi. 6(4): 211. DOI: 10.3390/jof6040211.
- [5] Gangneux J. P., Bournoux M. E., Dannaoui E., Cornet M. & Zahar J. R. 2020. Invasive fungal diseases during COVID-19: we should be prepared. Journal de Mycologie Médicale. 30(2):100971. DOI: 10.1016/j.mycmed.2020.100971.
- [6] Bongomin F., Gago S., Oladele R. O & Denning D. W. 2017. Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. Journal of Fungi. 18(4):57. DOI 10.3390/jof304005.
- [7] Galiza G. J. N., da Silva T. M., Caprioli R. A., Barros C. S. L., Irigoyen L. F., Figuera R. A., Lovato M. & Kommers G.D. 2014. Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230 casos. Pesquisa Veterinária Brasileira. 34(3): 224-232.
- [8] Seyedmousavi S., Bosco S. M. G., de Hoog S., Ebel F., Elad D., Gomes R. R., Jacobsen I. R., Jensen H. E., Martel A., Mignon B., Pasmans F., Piecková E., Rodrigues M. A., Singh K., Vicente A. V., Wibbelt G., Wiederhold N. P. & Guillot J. 2018. Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. Medical Mycology. 56(1):165–187. DOI: <https://doi.org/10.1093/mmy/myy028>
- [9] Alves R. C., Carneiro R. S., Kommers G. D., Souza A. P., Galiza G. J. N. & Dantas A. F. M. 2020. Systemic candidosis in dogs associated with Canine Distemper Virus. Acta Scientiae Veterinariae. 48(1): 575. DOI: 10.22456/1679-9216.103056

- [10] Brown M. R., Thompson C. A. & Mohamed F.M. 2005. Systemic candidiasis in an apparently immunocompetent dog. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 17: 272-27.
- [11] Heseltine J. C., Panciera D. L & Saunders G. K. 2003. Systemic candidiasis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 223(6): 821-824. DOI: 10.2460/javma.2003.223.821.
- [12] Gerding Jr P. A., Morton L. D. & Dye J. A. 1994. Ocular and disseminated candidiasis in an immunosuppressed cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 204(10): 1635-1638.
- [13] Lamm C. G., Grune S.C., Estrada M. M., McIlwain M. B. & Leutenegger C. M. 2013. Granulomatous rhinitis due to *Candida parapsilosis* in a cat. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 25(5): 596-598. DOI: 10.1292/jvms.18-0133
- [14] McCaw D., Franklin R., Fales W., Stockham S. & Lattimer J. 1984. Pyothorax is caused by *Candida albicans* in a cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 185(3): 311-312.
- [15] Duchaussoy A. C., Rose A., Tabolt J. J & Barrs V. R. 2015. Gastrointestinal granuloma due to *Candida albicans* in an immunocompetent cat. *Medical Mycology Case Reports*. 10: 14-17. DOI: 10.1016/j.mmcr.2015.12.002.
- [16] Palermo M. S., Newman W. A. & Koch W. M. 2019. *Candida albicans* cholecystitis with associated hepatitis in a cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*. 5 (1): 1-6. DOI: 10.1177/2055116919854165.
- [17] Guarner J. & Brandt M. E. 2011. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clinical Microbiology Reviews*. 24(2): 247-280. DOI: 10.1128/CMR.00053-10.
- [18] Kung V.L., Chernock R. D. & Burnham C. A. D. 2018. Diagnostic accuracy of fungal identification in histopathology and cytopathology specimens. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 37: 157-165. DOI: 10.1007/s10096-017-3116-3.

- [19] Magalhães G. M., Saut J. P. E., Beninati T., Medeiros A. A., Queiroz G. R., Tsurata S. A., Krockenberger M. & Headley S. 2012. A. Cerebral cryptococcomas in a cow. *Journal of Comparative Pathology*. 147(2): 106-110. DOI: 10.1016/j.jcpa.2012.01.001.
- [20] Martins T. B., Kommers G. D., Trost M. E., Inkelmann M. A., Figuera R. A & Schild A. 2012. Study of the histopathology and immunohistochemistry of pythiosis in horses, dogs, and cattle. *Journal of Comparative Pathology*. 146(2-3): 122-131. DOI: 10.1016/j.jcpa.2011.06.006.
- [21] Miranda L. H. M., Quintella L. P., Menezes R. C., Dos Santos I. B., Oliveira R. V. C., Figueiredo F. B., Lopes-Bezerra L. M. & Schubach T. M. P. 2011. Evaluation of immunohistochemistry for the diagnosis of sporotrichosis in dogs. *The Veterinary Journal*. 190(3):408-411. DOI:10.1016/j.tvjl.2010.12.004.
- [22] Schulze J. & Sonnenborn. 2009. Yeasts in the gut: from commensals to infectious agents. *Deutsches Ärzteblatt International*. 106(51-52): 837-842. DOI: 10.3238/arztebl.2009.0837.
- [23] Mancianti F., Giannelli C., Bendinelli M. & Poli A. 1992. Mycological findings in feline immunodeficiency virus-infected cats. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*. 30: 257-
- [24] Davies C. & Troy G. C. 1996. Deep mycotic infections in cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 32(5): 380-391/259.
- [25] Gionffrido J. R. 2000. Feline systemic fungal infections. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 30(5): 1229-1250. DOI: 10.1016/s0195-5616(00)05005-1.
- [26] Galiza G.J.N., da Silva T. M., Caprioli R. A., Tochetto C., Rosa F.B. Figuera R.A., Kommers G. D. 2014. Características histomorfológicas e histoquímicas determinantes no diagnóstico da criptococose em animais de companhia. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 34(3): 261-269. DOI: 10.1590/S0100-736X2014000300011.

[27] Bazzi T., de Melo S.M.P., Figuera R.A., Kommers G.D. 2016. Características clínico-epidemiológicas, histomorfológicas e histoquímicas da esporotricose felina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 36(4): 303-311.

[28] Bromel C. & Skyes J. E. Histoplasmosis in dogs and cats. 2005. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*. 20 (4): 227-232.

Figure captions

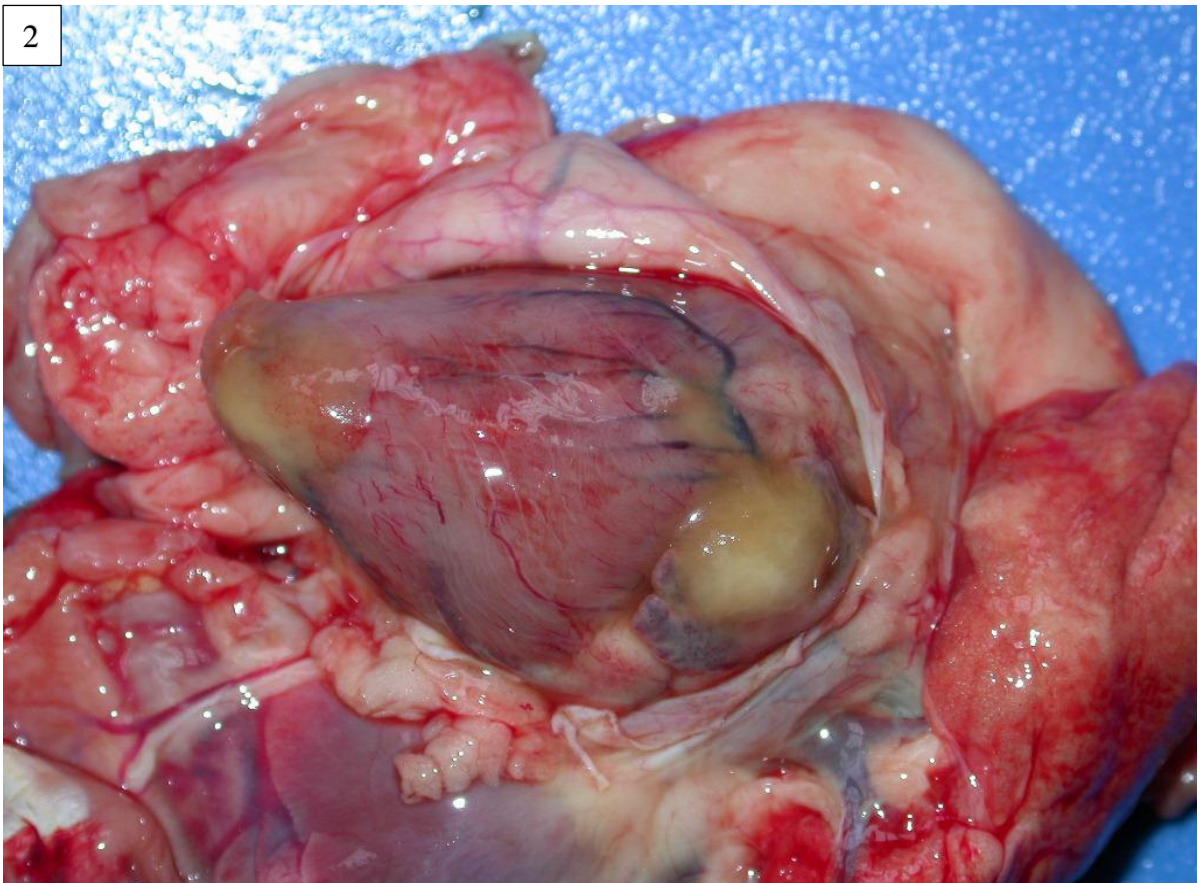
Figure 1. Abdominal cavity, there is yellowish, lumpy, opaque, and friable, multifocal to coalescent material covering the omentum and serosa of the organs. In the liver, a large amount of fibrin is diffusely adhered to the capsular surface.

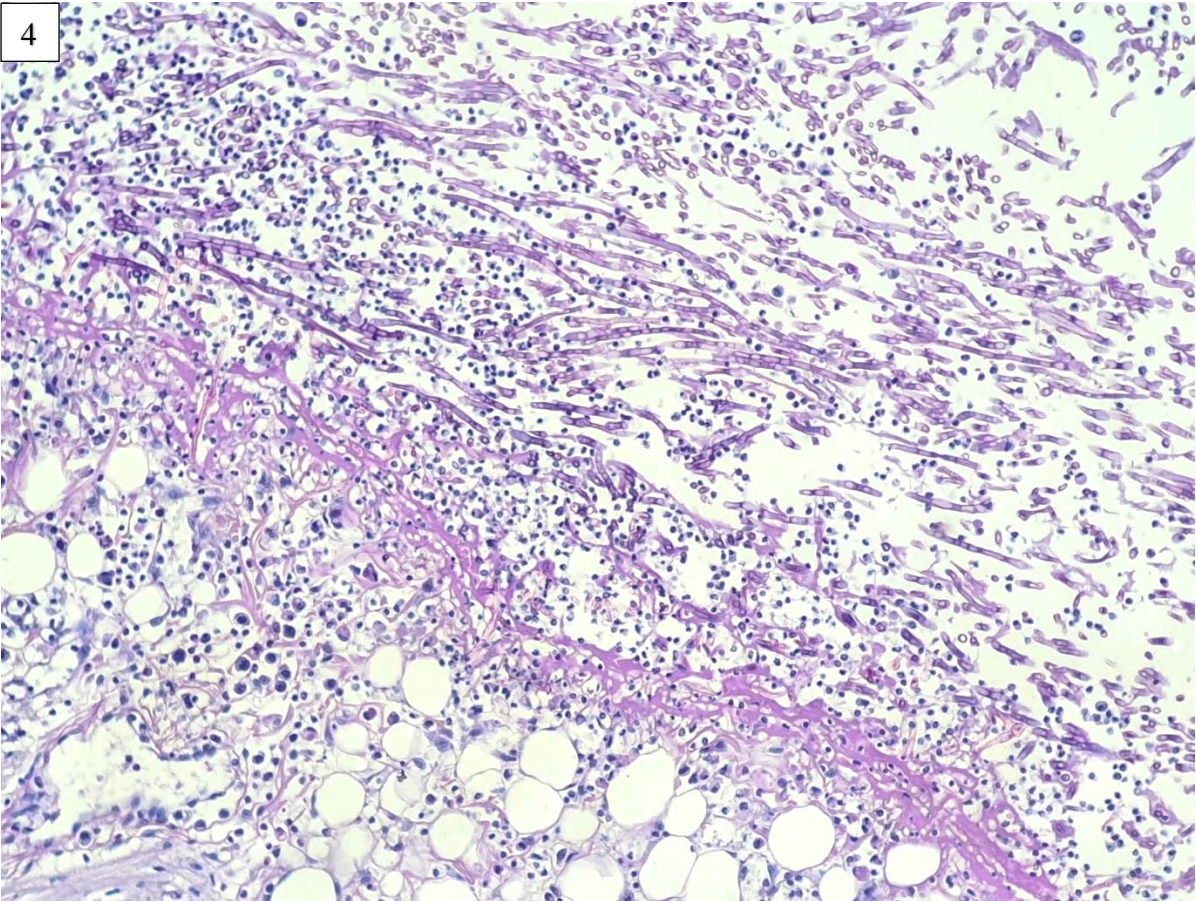
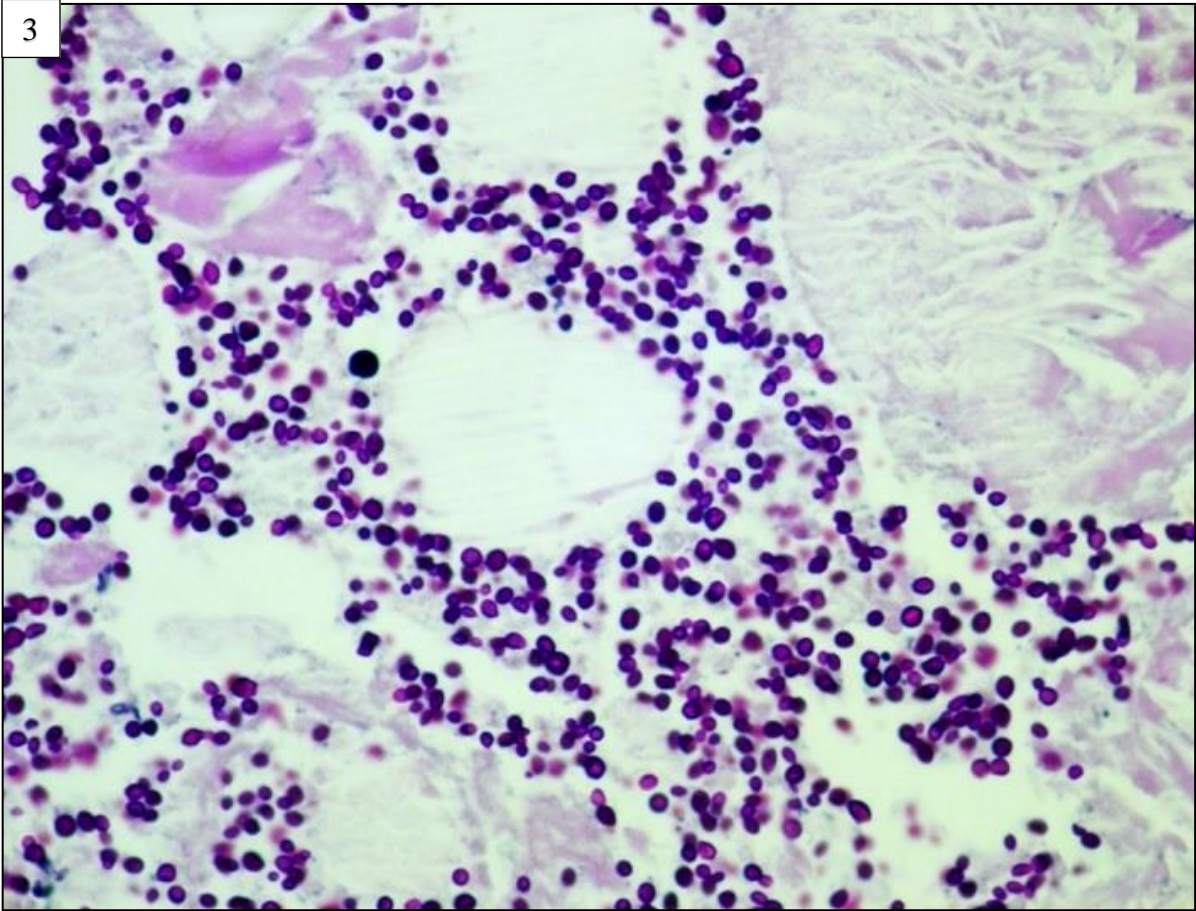
Figure 2. Heart, at the base and apex of the heart there are nodules approximately 2 cm in diameter, soft, yellowish and moderately translucent.

Figure 3. Omentum, yeasts are observed as round to oval basophilic structures, surrounded by eosinophilic amorphous necrotic material [HE; 20x].

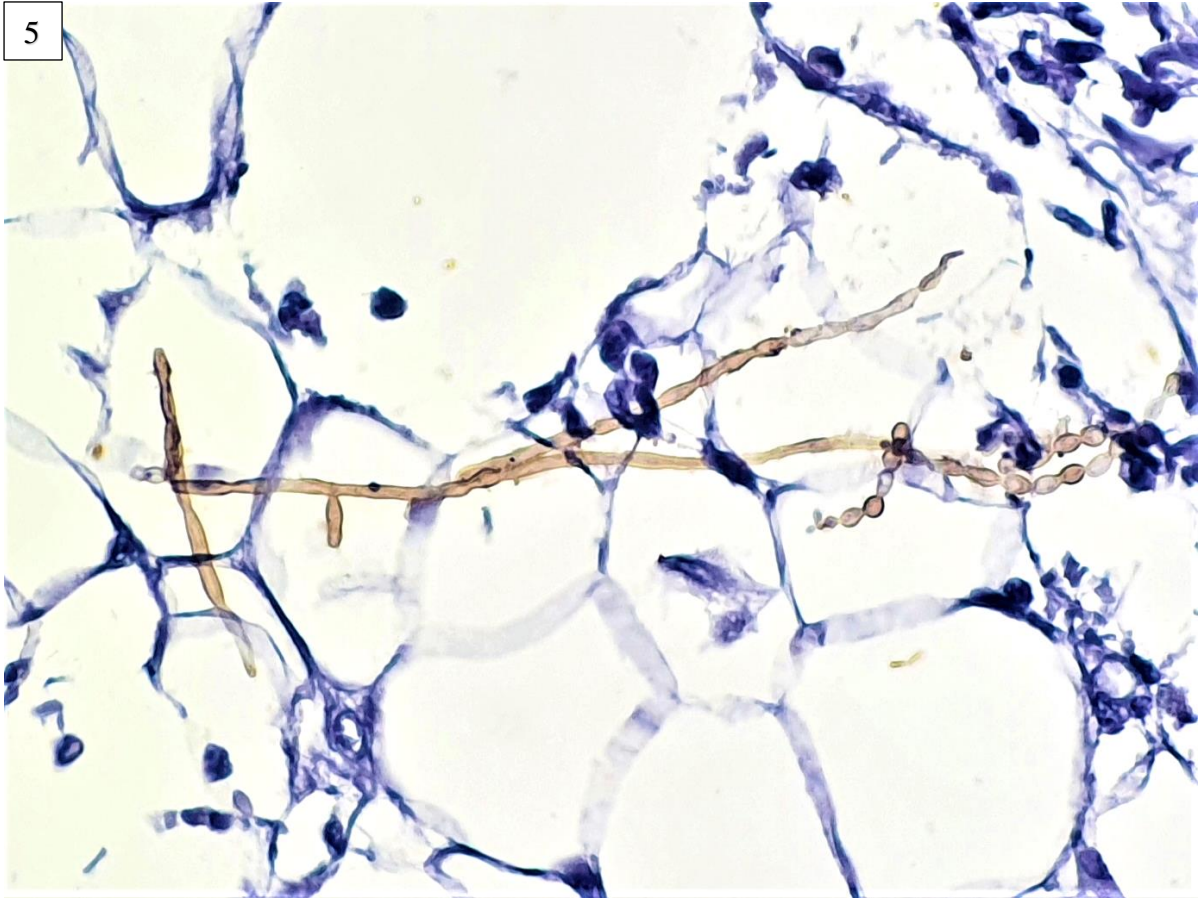
Figure 4. Omentum, inflammatory infiltrate consisting of macrophages, neutrophils, and lymphocytes associate with yeasts, pseudohyphae, and hyphae. [PAS; 40x].

Figure 5. Omentum, pseudohyphae immunostained by anti-*Candida albicans* monoclonal antibody [IHC, HRP-polymer method; 40x].





5



5 DISCUSSÃO

Através da revisão dos casos de candidíase em mamíferos domésticos e aves provenientes da rotina do LPV-UFSM, pode-se caracterizar os principais fatores desencadeantes, os achados macroscópicos e histoquímicos desta doença. Bem como estabelecer a técnica de imuno-histoquímica com anticorpo monoclonal para o diagnóstico de candidíase em animais. A avaliação deste conjunto de alterações resultou na elaboração de dois artigos científicos que compõem esta dissertação.

O primeiro artigo (Artigo 1) abrange os 56 casos de candidíase, onde a maior parte dos casos foram em aves (23/56; 41,1%), seguido de cães (22/56; 39,3%), gatos (4/56; 7,1%), suínos (3/56; 5,4%), bovinos (2/56; 3,6%) e ovinos (2/56; 3,6%). Dentre os sistemas orgânicos, o sistema alimentar (35/56; 62,5%) e o tegumentar (15/56; 26,8%) foram os mais afetados e dois animais (2/56; 3,6%) foram acometidos por essa doença de forma disseminada. Um desses dois animais, um gato com candidíase na cavidade abdominal, torácica e encéfalo, foi abordado separadamente em um relato de caso (Artigo 2), em vista da escassez de informações desta condição em felinos (GERDING; MORTON; DYE, 1994).

A candidíase é principalmente uma doença oportunista (PRESSLER, 2015) e com base nisso, fatores predisponentes e doenças concomitantes puderam ser elencadas associadas a esta enfermidade em animais. Nos cães e nos gatos foi observado uma predominância de doenças infecciosas (principalmente virais 12/26; 46%). Contudo, outras alterações também podem estar associadas (GIUFFRIDA, 2016), como foi observado no gato com candidíase disseminada, acometido por pancreatite crônica e tratado com antibióticos e corticoides. Nas aves, a maioria dos casos (16/23; 69,6%), não havia diagnóstico de uma doença concomitante, onde a candidíase então foi relacionada principalmente a fatores predisponentes, como por exemplo à alimentação rica em açúcar (DONELEY, 2016).

As alterações macroscópicas foram variáveis de acordo com o sistema orgânico acometido e muitas vezes não foram relacionadas à candidíase. No sistema alimentar de cães por exemplo, a principal doença concomitante foi a parvovirose. Na macroscopia, essa cursa com mucosa rugosa e com presença de fibrina (UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016), alterações que estavam presentes em todos esses casos, ao contrário de placas brancacentas e grumosas, lesões típicas de candidíase (UZAL; PLATTNER; HOSTETTER, 2016). Já no felino com candidíase disseminada, macroscopicamente havia placas e nódulos branco-amarelados e

friáveis em diferentes órgãos, que são sugestivos, embora não específicos, de lesões piogranulomatosas ou necrossupurativas, também descritas em outros casos de infecções sistêmicas por *Candida* spp. (BROWN; THOMPSON; MOHAMED, 2005, GERDING; MORTON; DYE, 1994; HELSENTINE; PANCIERA; SAUNDERS, 2003).

Na análise histopatológica do Artigo 1, foi possível caracterizar as diferentes formas morfológicas e quantidade do agente em associação com os sistemas orgânicos acometidos. Essa análise foi realizada em vista que fungos dimórficos expressam genes de virulência diferentes, dependendo da forma morfológica que se apresentam (THOMPSON; CARLISE; KADOSH, 2011) e poucos artigos científicos abordam esses critérios, sendo a maioria em humanos (ÁSMUNDSÓTTIR et al., 2009, GUARNER; BRANDT, 2011). No artigo 2, pode-se observar grande quantidade de pseudo-hifas e hifas de *Candida albicans* indo ao encontro da informação que essas formas morfológicas estão relacionadas com maior expressão de genes de virulência e capacidade de invasividade (THOMPSON; CARLISE; KADOSH, 2011).

Nos artigos 1 e 2, para confirmação dos casos de candidíase, foi utilizada a técnica de IHQ aliada ao diagnóstico histopatológico. O uso de um anticorpo monoclonal para essa doença, principalmente em mamíferos é um aspecto diferencial importante nesses artigos. Além disso, essa técnica já se mostrou eficaz no diagnóstico de candidíase em humanos (MARCILLA et al., 1999) e o uso de anticorpos monoclonais garante uma maior especificidade (RAMOS-VARA 2005). Em vista disso, essa técnica parece ser uma boa alternativa de diagnóstico quanto ao estabelecimento de uma etiologia mais específica em tecidos parafinizados, visto que uma das grandes problemáticas em laboratórios veterinários e humanos, são as discrepâncias encontradas entre cultura e histologia (GUARNER; BRANDT, 2011; KUNG; CHERNOCK; BURNHAM, 2018) e a falta de tecidos para envio à cultura micológica (GALIZA et al., 2014).

6 CONCLUSÃO

Este estudo permitiu caracterizar a candidíase na rotina diagnóstica do LPV-UFSM e relatar um caso incomum de candidíase disseminada em um gato. A candidíase afetou principalmente o sistema alimentar e tegumentar de aves e cães. Nas aves, a maior parte dos casos não foi associado à uma doença primária e sim a outros fatores predisponentes. Nos cães, a candidíase estava relacionada principalmente a doenças virais.

Na análise macroscópica dos casos, ficou evidente que a candidíase é de difícil reconhecimento, pois muitas vezes não cursa com lesões típicas e pode estar oculta pelas doenças primárias. Na histopatologia, essa estava relacionada principalmente com lesões ulcerativas, erosivas, fibrinonecróticas e hiperkeratose. As diferentes formas morfológicas de *Candida* spp. foram encontradas em todos os sistemas, onde quantidade acentuada do agente foi vista principalmente no sistema alimentar e infecções disseminadas.

A IHQ com anticorpo monoclonal anti-*Candida albicans* se mostrou uma ferramenta eficaz ao diagnóstico desta enfermidade em cães, gatos, suínos, ruminantes e aves de diferentes ordens.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBY, K.; BENNET, R. J. Sexual reproduction in the *Candida* clade: cryptic cycles, diverse mechanisms, and alternative functions. **Cellular and Molecular Life Sciences**. v. 67. n. 19. p. 3275-3285, oct., 2010.
- ALMEIDA J. N. Jr. Emergence of *Candida auris* in Brazil in a COVID-19 intensive care unit. **Journal of Fungi**. v. 7. n. 3:220, p. 1-6, mar. 2021.
- AL-YASIRI, M. H. et al. Opportunistic fungal pathogen *Candida glabrata* circulates between humans and yellow-legged gulls. **Scientific Reports**. v. 6. p.1-8, oct., 2016.
- BORAH, M. K. et al. Concurrent *Cryptosporidium* and *Candida* infections in a buffalo calf (*Bubalus bubalis*). **Comparative Clinical Pathology**. v. 22, p. 895-898, may, 2012.
- CULLING, C. F. A.; ALISSON, R. T.; BARR, W. T. **Celular Pathology Technique**. 4th. ed. London: Butterworths, 1985. p.116-453.
- D'HUE, Z.; PERKINGS, S. M.; BILLINGS, D. GMS is superior to PAS for diagnosis of onychomycosis. **Journal of Cutaneous Pathology**. v. 35. p. 745-747, 2008.
- EDELMANN, A.; KRÜGER, M.; SCHMID, J. Genetic relationship between human and animal isolates of *Candida albicans*. **Journal of clinical microbiology**. v. 43. n. 12. p. 6164-6166, dec., 2005.
- EYZAGUIRRE, E.; HAQUE, A. R. Application of immunohistochemistry to infections. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**. v. 132. p. 424-431, 2008.
- GAASTRA, W. et al. *Pythium insidiosum*: An overview. **Veterinary Microbiology**. v. 146, p. 1-16, 2010.
- GAMBELE, W. Morfologia, reprodução e taxonomia dos fungos. In: ZAITZ, C. et al. **Compêndio de micologia médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. cap. 8. p. 89-98.
- GONÇALVES, B. et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors. **Critical Reviews in Microbiology**. v. 42. n. 6. p. 905-927, dec., 2015.
- GROSS, T. L. et al. Diseases of the epidermis. In: _____. **Skin diseases of the dog and cat: clinical and histopathologic diagnosis**. 2nd. ed. Ames: Blackwell Science, 2005. cap. 1, p. 9-11.
- JEFFERY-SMITH, A. et al. *Candida auris*: a review of literature. **Clinical Microbiology Reviews**. v. 31. p. 1-18, jan, 2018.
- KITAMURA, H. et al. Chronic mastitis caused by *Candida maltosa* in a cow. **Veterinary Pathology**. v. 27. p. 465-466, 1990.
- KRASTEV, S. et al. Vertebral osteomyelitis due to *Candida albicans* in a dog. **Trakia Journal of Sciences**. v. 6. n. 2. p. 66-72, 2008.

- LING, G. V. et al. Interrelations of organism prevalence, specimen collection method, and host age, sex, and breed among 8,354 canine urinary tract infections (1969–1995). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 15. p. 341-347, feb., 2001.
- MADISON, J. B.; REID B. V.; RASKIN, R. E. Amphotericin B treatment of *Candida* arthritis in two horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 206. n. 6. p. 338-341, feb, 1995.
- MUELLER, S. R.; BETTNEY, V. S.; SHIPSTONE, M. Cutaneous candidiasis in a dog caused by *Candida guilliermondi*. **The Veterinary Record**. v. 150. p.728-730, jun., 2002.
- NUCCI, M.; MARR, A. K. Emerging fungal diseases. **Clinical Infection Diseases**. v. 41. n. 4. p. 521-526, aug., 2005.
- POHLMAN, M. L; CHENGAPPA, M. M. Fungos: *Cryptococcus*, *Malassezia* e *Candida*. In: SCOTT, M.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M.M. **Microbiologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. cap. 44, p. 321-328.
- QUINN, P. J. et al. Características gerais dos fungos associados a doenças em animais. In: QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária essencial**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018. cap. 41. p. 98-99.
- QUINN, P. J. et al. Leveduras e produção de doenças. In: QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária essencial**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018. cap. 44. p. 104-106.
- RIBEIRO, G. M. et al. Mastite em animais domésticos. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. cap. 112, p. 1155-1205.
- SCHLAFER, H. D.; FOSTER, A. R. Female genital system. In: MAXIE, M. G. **Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals**. 6th. ed. Saint Louis: Elsevier, 2016. v. 3, cap. 4, p. 418-419.
- SOUTO, E. P. F. et al. Cerebral *Candida albicans* infection in two dogs. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 46. n.1. p.1-6, oct., 2018.
- TAMURA, N. K. et al. Fatores de virulência de *Candida spp.* isoladas de cateteres venosos e mãos de servidores hospitalares. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 40. n. 1. p. 91-93, jan-fev., 2007.
- WINSTON, J. A. et al. *Cyniclomyces guttulatus* infection in dogs: 19 cases (2006-2013). **Journal of the American Animal Hospital Association**. v. 52. n. 1, p. 42-51, jan, 2016.
- YOUNGBERG, G. A. et al. Narrow-spectrum histochemical staining of fungi. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**. v. 127. n. 11. p. 1529-1530, nov., 2003.