

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Paula Manuela de Miranda Alves

**SINUSITE POR *Aspergillus* spp. COMO ACHADO DE NECROPSIA EM UM FELINO
COM CISTITE NECROHEMORRÁGICA ASSOCIADA À UROLITÍASE**

SOUSA-PB

2021

Paula Manuela de Miranda Alves

**SINUSITE POR *Aspergillus* spp. COMO ACHADO DE NECROPSIA EM UM FELINO
COM CISTITE NECROHEMORRÁGICA ASSOCIADA À UROLITÍASE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado,
como parte das exigências para a conclusão do
Curso de Graduação de Bacharelado em
Medicina Veterinária do Instituto Federal da
Paraíba, Campus Sousa.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lisanka Ângelo Maia

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Leandro da Silva Carvalho – Bibliotecário CRB 15/875

Alves, Paula Manuela de Miranda

A474s Sinusite por *Aspergillus* spp. como achado de necropsia em um felino com cistite necrohemorrágica associada à urolitíase / Paula Manuela de Miranda Alves. – Sousa, 2021.
32 p.: Il.

Orientadora: Profa. Dra. Lisanka Ângelo Maia.

TCC (Graduação – Bacharelado em Medicina Veterinária) - IFPB, 2021.

1. Conidióforos. 2. Fungo. 3. Felinos. I. Maia, Lisanka Ângelo. II. Título.

IFPB / BC

CDU 619



REPUBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA

CERTIFICADO

APROVAÇÃO

Título: SINUSITE POR *Aspergillus* spp. COMO ACHADO DE NECROPSIA EM UM FELINO COM CISTITE NECROHEMORRÁGICA ASSOCIADA À UROLITÍASE". Autora: **Paula Manuela de Miranda Alves**. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovado pela Comissão Examinadora em: **28/ 05/ 2021**.

(assinado eletronicamente)

Professora Doutora Lisanka Ângelo Maia

IFPB – Campus Sousa

Professora Orientadora

(assinado eletronicamente)

Professora Doutora Sheila Nogueira Ribeiro Knupp

IFPB – Campus Sousa

Examinador 1

(assinado eletronicamente)

Professor Doutor Maria Talita Soares Frade

UFCA-Crato-CE

Examinador 2

Documento assinado eletronicamente por:

- **Maria Talita Soares Frade**, PROFESSOR DE ENSINO SUPERIOR NA ÁREA DE ORIENTAÇÃO EDUCACIONAL, em 15/06/2021 21:16:43.
- **Lisanka Angelo Maia**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 12/06/2021 10:34:44.
- **Sheila Nogueira Ribeiro Knupp**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 12/06/2021 00:04:42.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 12/06/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifpb.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 196570

Código de Autenticação: f3cf1849a3



Ao meu avô, João Alves de Araújo
(*in memoriam*), meu maior
incentivador desde o início,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pelo dom da vida, e por me permitir realizar esse sonho, reconhecendo que sem Ele, nada sou e toda glória é para Ele.

Aos meus pais, Aldinete Dias de Miranda Alves e Mardonio Alves de Araújo, pelo amor, educação e por tudo que me fizeram ser quem sou hoje. Amo vocês.

À minha irmã, Ana Júlia de Miranda Alves, por todos os momentos de alegria que me mantiveram de pé para prosseguir.

Aos meus tios, Maria e Francisco, por todo cuidado, acolhimento e serem como verdadeiros pais para mim e aos meus primos Wilson e Mayara por serem inspiração desde que nasci.

À todos os meus familiares, os quais me incentivaram, apoiaram e sempre de alguma forma não mediram esforços para me ajudar nos momentos em que precisei. Em especial aos meus avós Josefa, Luiz, Maria e João (*in memoriam*) e a minha tia querida Marli.

Ao meu namorado, Matheus, pelo companheirismo, amor e por não soltar a minha mão em momento algum. Obrigada por acreditar em mim.

Aos meus colegas e amigos da turma 2016.1, pela convivência, aprendizado, estudos, momentos de diversão e por tornarem os dias difíceis mais leves. Em especial a Andressa, Caroline, Kiára e Mariana, nossa amizade vai além da vida.

À todos os professores do IFPB por transmitirem da melhor forma os seus conhecimentos, por toda competência e aperfeiçoamento nas aulas, além de todo incentivo e paciência. Em especial a minha orientadora professora Dr^a Lisanka Ângelo Maia, que aceitou prontamente me orientar neste trabalho, pelos ensinamentos, paciência, conselhos, muitas vezes abrindo mão de noites de descanso para contribuir da melhor forma possível, sendo um exemplo de pessoa e profissional.

À professora Dr^a. Sheila Nogueira Ribeiro Knupp e Dr^a Maria Talita Soares Frade por terem aceitado o convite para integrar a banca examinadora e colaborar com seus conhecimentos. Agradeço pela disponibilidade e por contribuir com seus argumentos.

Ao professor Marcelo Helder Medeiros Santana, professor da disciplina por todo suporte, disponibilidade e compreensão.

À todos do Laboratório de Patologia Animal, onde tive o prazer de desenvolver projetos e pesquisas que agregaram na minha graduação, por todo conhecimento e aprendizado adquirido.

À todos do Hospital Veterinário Adílio Santos de Azevedo (HV-ASA) e do Instituto Federal da Paraíba (IFPB), por toda assistência ao longo desses anos.

Aos animais, pois sem o amor que tenho por eles esse sonho não seria possível.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para minha conclusão da graduação em Medicina Veterinária.

Muito obrigada a todos!

RESUMO:

Descreve-se os aspectos clínico-patológicos de um caso de sinusite por *Aspergillus* spp. em um felino. Os dados do animal, histórico clínico e achados patológicos, foram coletados da ficha de atendimento da Clínica Médica de Pequenos Animais e Laboratório de Patologia Animal, do Hospital Veterinário Adílio Santos de Azevedo, respectivamente. Tratava-se de um felino, macho, de dois anos de idade que havia sido submetido inicialmente a procedimento de desobstrução uretral e cistotomia para retirada de cálculos, contudo, após dois dias do procedimento cirúrgico o animal morreu. Na necropsia as lesões foram observadas principalmente no seio nasal esquerdo que estava ocluído por exsudato firme, semelhante a uma massa de coloração amarelo esverdeada. A parede da bexiga estava espessada e na mucosa havia áreas multifocais a coalescentes avermelhadas. Para avaliação microscópica, fragmentos de tecidos da cavidade nasal, torácica, abdominal e sistema nervoso central foram coletados, fixados em formol a 10% e processados rotineiramente, corados por hematoxilina e eosina e metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS). No exame histopatológico o exsudato correspondia a material eosinofílico e necrótico associado à debris celulares e neutrófilos com presença de miríades de imagens negativas de estruturas tubuliformes, algumas demonstrando extremidade balonosa (vesícula), recoberta por cadeias de conídios e fiálides, característicos de conidióforos. Na coloração de GMS, hifas e conidióforos foram coradas em marrom. As hifas apresentavam paredes finas e paralelas, septadas e por vezes com ramificações dicotômicas. Havia também cistite necrohemorrágica associada à fibrose e congestão. O diagnóstico de sinusite por *Aspergillus* spp. foi realizado com base nos aspectos microscópicos do exsudato do seio nasal e observação de hifas e conidióforos característicos desse agente. Chama-se a atenção a ocorrência da sinusite por *Aspergillus* spp. em gato como achado de necropsia, bem como a importância do exame necroscópico para o diagnóstico desse caso e a avaliação dos seios paranasais nessa espécie, mesmo na ausência de exsudato nasal, tendo em vista que podem ter alterações que nem sempre são identificadas clinicamente.

Palavras-chave: Conidióforos. Fungo. Oportunista.

ABSTRACT:

It describes the clinical-pathological aspects of a case of sinusitis by *Aspergillus* spp. in a feline. Animal data, clinical history and pathological findings were collected from the service form of the Medical Clinic of Small Animals and Laboratory of Animal Pathology, of the Veterinary Hospital Adílio Santos de Azevedo, respectively. It was a two-year-old male feline that had been submitted to a bulletin for a urethral clearance procedure and a cystotomy to remove stones, however, two days after the surgical procedure, the animal died. At necropsy, lesions were observed mainly in the left nasal sinus, which was occluded by firm exudate, similar to a greenish-yellow mass. A bladder with thickened walls and a mucosa with reddish multifocal to coalescing areas. For microscopic evaluation, tissue fragments from the nasal, thoracic, abdominal and central nervous system were collected, fixed in 10% formalin and routinely processed, stained with Grocott silver nitrate (GMS) and hematoxylin and eosin and methenamine. On histopathological examination, the exudate corresponded to eosinophilic and necrotic material associated with cellular debris and neutrophils, with the presence of myriads of negative images of tubuliform structures, some showing a ballooned end (vesicle), covered by conicule and phialid chains, characteristic of conidiophores. In GMS staining, hyphae and conidiophores were stained in brown. The hyphae had thin, parallel walls, septate and sometimes with dichotomous ramifications. There was also necrohemorrhagic cystitis associated with fibrosis and congestion. The diagnosis of sinusitis caused by *Aspergillus* spp. was performed based on the microscopic aspects of the nasal sinus exudate and observation of hyphae and conidiophores characteristic of this agent. Attention is drawn to the occurrence of sinusitis caused by *Aspergillus* spp. in cats as a necropsy finding, as well as the importance of the necropsy for the diagnosis of this case and the evaluation of the paranasal sinuses in this species, even in the absence of nasal exudate, considering that they may have alterations that are not always clinically identified.

Keywords: Conidiophore. Fungus. Opportunist.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 -** Sinusite por *Aspergillus* spp. em um felino. Observa-se na mucosa da bexiga áreas multifocais a coalescentes avermelhadas..... 22
- Figura 2 -** Sinusite por *Aspergillus* spp. em um felino. A. Observa-se exsudato amarelo esverdeado ocluindo o seio nasal esquerdo. B. Exsudato, firme, semelhante a uma massa, com aproximadamente três cm de diâmetro, amarelo esverdeado, com superfície irregular às vezes recoberta por material floculado acinzentado..... 23
- Figura 3 -** Sinusite por *Aspergillus* spp. em um felino. A. Observa-se exsudato caracterizado por material eosinofílico e debris celulares associado a miríades de imagens negativas de estruturas tubuliformes, semelhantes a hifas, em cortes transversais e longitudinais, algumas com citoplasma basofílico. HE. Obj.10x. B. Observa-se na extremidade do material necrótico, hifa demonstrando extremidade balonosa (vesícula), recoberta por cadeias de conídios (esporos), característicos de conidióforos. HE. Obj. 40x. C. Observam-se miríades de hifas coradas em marrom, com paredes finas e paralelas, septadas em cortes longitudinais. GMS. Obj. 40x. D. Observam-se miríades de hifas em cortes transversais e longitudinais, além de conidióforos (inset). GMS. Obj.10x. 24
- Figura 4 -** Sinusite por *Aspergillus* spp. em um felino. Bexiga. Observa-se mucosa ulcerada, caracterizada por perda do epitélio associada a material eosinofílico e fibrilar, além de infiltrado inflamatório predominantemente neutrofilico. Adjacentes às áreas de necrose, observa-se na submucosa proliferação de tecido conjuntivo fibroso associado a áreas multifocais de hemorragia e congestão de vasos sanguíneos. HE. Obj.40x. 25

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% – Porcentagem

IDGA – Imunodifusão em gel de ágar

bpm– Batimentos por minuto

DNA– Ácido desoxirribonucleico

ELISA– Ensaio de imunoabsorção enzimática

fL– Fentolitro

GMS– Metenamina de prata de Grocott-Gomori

g/dL– Grama por decilitro

HE– Hematoxilina- eosina

HV-ASA – Hospital Veterinário Adílio Santos de Azevedo

IFPB – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba

IHQ– Técnica de imuno-histoquímica

LPA– Laboratório de Patologia Animal

mg/kg – Miligrama por quilo

mL- Mililitros

mpm- Movimentos por minuto

µm – Micrômetro

PAS- Ácido Periódico de Schiff

PB – Paraíba

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PPT- Proteínas plasmáticas totais

SRD – Sem Raça Definida

TCC – Tomografia computadorizada do crânio

VCM – Volume Corpuscular Médio

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 12 |
| 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA | 13 |
| 2.1 Etiologia | 13 |
| 2.2 Epidemiologia | 13 |
| 2.3 Patogenia..... | 14 |
| 2.4 Apresentação clínica..... | 15 |
| 2.5 Diagnóstico | 16 |
| 2.6 Patologia | 17 |
| 2.7 Diagnóstico Diferencial | 18 |
| 2.8 Tratamento | 19 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS | 20 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 21 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS | 28 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 29 |

1. INTRODUÇÃO

As afecções do trato respiratório superior são comuns em gatos, sendo causados principalmente por agentes virais, bacterianos, neoplasias e, menos frequentemente, fungos. Dentre os fungos que causam infecções na cavidade nasal e seios nasais de gatos destaca-se *Aspergillus* spp. (BARACHETTI et al., 2009). Esse agente representa grande importância na Medicina Veterinária, pois reúne espécies importantes que são responsáveis por produção de micotoxinas e infecções ocasionando diversas patologias (ZACHARY, 2018).

Aspergillus spp. são fungos oportunistas, amplamente distribuídos no ambiente, encontrados principalmente no solo e vegetação em decomposição (BARRS; TALBOT, 2014). *A. fumigatus* é a espécie responsável pela maioria das infecções em gatos (HARTMANN et al., 2013) que geralmente ocorrem associadas a doenças imunossupressoras como a panleucopenia felina, peritonite infecciosa e leucemia felina (GREENE, 2015).

As formas de apresentação clínicas mais comuns nesta espécie são sinorbital e sinonasal (COSTA et al., 2019; BARRS; TALBOT, 2014; GREENE, 2015). Os sinais clínicos iniciais, às vezes presentes por períodos prolongados (meses, anos), são inespecíficos e comuns a outras infecções do trato respiratório superior (HARTMANN et al., 2013). Entretanto, em casos graves pode ocorrer extensão das lesões para o palato, invasão da placa cribiforme, muito provavelmente por metabólitos fúngicos e a reação inflamatória, resultando na abertura de uma passagem para o sistema nervoso central (SHARMAN; MANSFIELD, 2012). Devido os sinais clínicos inespecíficos, o diagnóstico dessa infecção pode ser realizado através da coleta de material para realização de exames que permitam a identificação do agente, incluindo cultura fúngica, histopatologia, imuno-histoquímica e biologia molecular (COSTA et al., 2019; GALIZA, 2014).

No Brasil foram relatados poucos casos de infecção por *Aspergillus* spp. em gatos. Costa et al (2012) descreveu a infecção nas regiões sinonasal e sinorbital em um gato persa e Castro et al. (2017) descreveu aspergilose pulmonar em dois gatos com histórico de *diabetes mellitus*. Portanto, objetivou-se descrever os aspectos clínico-patológicos de um caso de sinusite por *Aspergillus* spp. em um felino com cistite necrohemorrágica associada à urolitíase, diagnosticado no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário Adílio Santos de Azevedo.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Etiologia

Aspergillus spp. é um fungo filamentosso sapróbio, oportunista, que desenvolve-se principalmente em solos ricos em matéria orgânica em decomposição. O gênero *Aspergillus* apresenta mais de 250 espécies (KLICH, 2007), sendo *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *A. felis* e *A. nidulans* as mais descritas e associadas a infecções em humanos e animais. *A. fumigatus* é a espécie mais comumente envolvida em invasão tecidual, principalmente no trato respiratório superior de animais e constantemente envolvida na forma sinusal (JONES; HUNT; KING, 2000; DAVEY, 2003). *A. felis* tem sido ocasionalmente associado a forma sinusal em felinos (BARRS et al., 2013).

As espécies patogênicas de *Aspergillus* spp. geralmente possuem capacidade de sobrevivência nas temperaturas corporais dos hospedeiros e produção de metabólitos relacionados à supressão e evasão da resposta imune (BARRS; TALBOT, 2014). Adicionalmente, apresentam crescimento rápido em colônias distintas após incubação de dois a três dias, sendo *A. fumigatus* termotolerante, podendo multiplicar-se em temperaturas de 20 a 57°C (QUINN et al., 2005).

Aspergillus spp. morfologicamente apresentam hifas septadas de 2 a 8 µm de diâmetro que dão origem a conidióforos não ramificados e cada conidióforo possui vesícula coberta com fiálides em forma de flecha que suportam cadeias de conídios redondos (Figura 1) (GREENE, 2015). As espécies podem ser diferenciadas conforme a morfologia das fiálides, cor, parede celular das vesículas, conídios e conidióforos (QUINN et al., 2005; SANCHES; COUTINHO, 2007).

2.2 Epidemiologia

Aspergillus spp. possui distribuição cosmopolita, havendo maior ocorrência em países de clima tropical e subtropical (SANCHES; COUTINHO, 2007). Além da matéria orgânica em decomposição, podem ser encontrados principalmente no ar, solo e água. Esta ampla distribuição do *Aspergillus* spp. favorece a exposição e conseqüentemente a contaminação por esse agente (QUINN, 2005; DAY et al., 2012; MEIRELES; NASCENTE, 2009). A infecção por *Aspergillus* spp. ocorre em mamíferos e aves, sendo mais frequente em aves

(MEIRELES; NASCENTE, 2009). Nos animais de companhia é comumente relatada em cães (CARVALHO, 2013) e ocorre ocasionalmente em gatos (BARACHETTI, 2009).

Fatores como a imunidade, má nutrição, utilização de antibióticos e corticóides por período prolongado, bem como animais que foram submetidos a tratamentos oncológicos ou alta exposição de conídios do agente favorecem a infecção, devido o seu caráter oportunista (JONES; HUNT; KING, 2000; DAY et al., 2012). Adicionalmente, felinos com doenças imunossupressoras como panleucopenia felina, peritonite infecciosa e leucemia felina são considerados mais susceptíveis a infecção por *Aspergillus* spp. (GREENE, 2015).

Em gatos, acredita-se que a idade e sexo não são fatores predisponentes, entretanto pode ocorrer com maior frequência em raças braquicefálicas como Persa e Himalaia, devido a redução da drenagem de secreções respiratórias superiores (BARRS et al., 2007). Em cães a infecção por *Aspergillus* spp. tem sido mais comum em raças dolicocefálicas (GREENE, 2015), como em cães da raça Pastor alemão (TAYLOR et al., 2015).

2.3 Patogenia

A patogênese da infecção por *Aspergillus* spp. é similar à de outras infecções fúngicas e o trato respiratório constitui a principal porta de entrada para esse agente, porém, embora menos frequente, a infecção também pode ocorrer por ingestão de esporos e traumas teciduais (QUINN et al., 2005).

Inicialmente, ocorre a inalação de conídios (2 a 3 µm) através do trato respiratório, que podem ficar aprisionados na camada de muco da mucosa nasal e interagir com o aparelho mucociliar e suas respectivas células de defesa. Conídios, geralmente são fagocitados por neutrófilos e macrófagos, que debelam o agente. Entretanto, em animais imunocomprometidos ou incapazes de fagocitar e eliminá-los, os conídios passam a colonizar a cavidade nasal e os seios nasais, secretam proteases, gliotoxina, fumagilina, verruculogena e ácido helvólico, que diminuem a velocidade de batimento dos cílios do aparelho mucociliar, promovendo perda e destruição das células epiteliais com exposição da membrana basal subjacente (laminina) (ZACHARY, 2018). Conídios, por sua vez, germinam em hifas, proliferam-se e podem invadir toda a mucosa da cavidade nasal e dos seios nasais (MEIRELES; NASCENTE, 2009; ZACHARY, 2018). Além disso, o fibrinogênio, fibronectina e fragmentos C3 do sistema complemento são liberados pela inflamação e recobrem a membrana basal exposta, como resposta de reparação, porém a laminina e colágeno expostos tornam-se receptores de ácido siálico e outras glicoproteínas de conídios, o

que por sua vez contribui para patogenicidade da infecção e colonização das mucosas (ZACHARY, 2018).

Em gatos, pode ocorrer invasão extranasal, com extensão das lesões para o palato, invasão da placa cribiforme, muito provavelmente por metabólitos fúngicos e a reação inflamatória, resultando na abertura de uma passagem para o sistema nervoso central (SHARMAN; MANSFIELD, 2012) e invasão da órbita ocular, sendo essa apresentação caracterizada como sinorbital, (GREENE, 2015; DAY; BARRS, 2015). Devido a sua característica angioinvasiva, as hifas de *Aspergillus* spp. também podem invadir as células endoteliais dos capilares, causando vasculite, trombose e embolia, disseminar-se pelo sistema circulatório e atingir outros órgãos (JONES; HUNT; KING, 2000), como o pulmão, trato gastrintestinal ou urinário (BARRS; TALBOT, 2014).

2.4 Apresentação clínica

Em animais de companhia, foram relatadas três formas de apresentação clínico-patológica: nasal, disseminada e pulmonar (SYKES, 2014). Em gatos as principais formas de manifestação descritas são: sinonasal (SNA) e sinorbital (SOA) (COSTA et al., 2019; BARRS; TALBOT, 2014; GREENE, 2015), que geralmente ocorrem como extensão das lesões iniciais da cavidade nasal. Um estudo retrospectivo em Nova Gales do Sul, leste da Austrália, em 23 gatos com infecção por *Aspergillus* spp. na cavidade nasal, 17 evoluíram para forma sinorbital (BARRS et al., 2012).

Os sinais clínicos são geralmente inespecíficos e variam de acordo com o órgão afetado, a extensão das lesões, evolução clínica e imunidade do animal acometido (SANCHES; COUTINHO, 2007). Em cães, a infecção nasal por *Aspergillus* spp. geralmente está associada, epistaxe, descarga nasal unilateral ou bilateral, com secreção serosa, mucopurulenta ou hemorrágica (QUINN et al., 2005; SANCHES; COUTINHO, 2007; TILLEY; SMITH JR., 2008). Quando há comprometimento pulmonar, geralmente são observados sinais clínicos inespecíficos como letargia, anorexia, depressão e febre, e devido a pneumonia há também tosse persistente, hemoptise e dispnéia expiratória (SOUTO et al., 2016; KIM et al, 2003; TEIXEIRA, 2012).

Na aspergilose disseminada pode ocorrer envolvimento de vários sistemas e a evolução clínica da doença pode variar de aguda ou crônica. O baço e os rins são os mais acometidos e nesses casos pode ocorrer poliúria, polidipsia e hematúria, o sistema gastrintestinal é ocasionalmente acometido. Em casos de discoespondilite fúngica pode

ocorrer dor espinhal e claudicação (ETTINGER; FELDMAN, 2004; TILLEY; SMITH JR., 2008).

Em gatos, com apresentação clínica sinonasal foram relatados espirros, corrimento nasal unilateral ou bilateral seroso ou mucopurulento, epistaxe e estertores. Esses sinais geralmente ocorrem como consequência de granulomas e massas que estendem-se das narinas para tecidos moles, e menos frequentemente, atingem tecidos ósseos ocasionando deformidade e osteólise (HARTMANN et al., 2013). A forma sinorbital, também observada em gatos, é relatada como mais invasiva, pois o fungo atinge o tecido submucoso da cavidade e se estende para o osso orbital e espaço retrobulbar (HARTMANN et al., 2013). Nesses casos, os sinais clínicos incluem exoftalmia com prolapso de terceira pálpebra, ceratite e hiperemia conjuntival. Quando há invasão do osso palatino, pode ocorrer também formação de massa na fossa pterigopalatina ipsilateral atrás do último dente molar (GREENE, 2015).

2.5 Diagnóstico

O diagnóstico de infecções por *Aspergillus* spp. pode ser realizado através exames complementares, que permitem a identificação do agente como cultura fúngica, histopatologia, imuno-histoquímica e biologia molecular (COSTA et al., 2019; GALIZA, 2014).

Os resultados de culturas fúngicas devem ser interpretados com cautela, pois podem refletir a colonização das vias aéreas e não caracterizar como um processo infeccioso, devendo sempre associar a outras evidências diagnósticas (BENITAH, 2006), no entanto, uma cultura abundante de qualquer órgão deve ser considerada e em caso de resultado negativo, a aspergilose não pode ser descartada (FLAMMER; OROSZ, 2008). Ferreira (2008) conseguiu isolar as espécies *A. fumigatus*, *A. niger* e *A. flavus* após três dias de cultivo em placa contendo Meio de Ágar Malte, acrescido de clorafenicol, incubada a 37°C, semeada com amostra de descarga nasal de um cão.

O exame histopatológico é realizado através de amostras de biópsias ou necropsia e permite a observação de necrose e inflamação, associadas a visualização de imagens negativas de hifas em cortes transversais e longitudinais (coloração hematoxilina e eosina) e é possível a visualização de conidióforos em superfícies em contato com oxigênio (NARDONI et al., 2006; CACCIUTTOLO et al., 2009). Para a caracterização morfológica do agente é necessário a realização de colorações histoquímicas especiais, como Ácido Periódico de

Schiff (PAS) e metenamina de prata de Grocott-Gomori (GMS), (ZACHARY, 2018; CASTRO et al., 2017).

Como *Aspergillus* spp. apresenta características semelhantes a outros fungos, para diagnóstico definitivo recomenda-se a associação do exame histopatológico com a imuno-histoquímica. A técnica de imuno-histoquímica (IHQ) faz a identificação de vários elementos fúngicos em tecidos fixados em formol, promovendo uma identificação específica do agente etiológico (EYZAGUIRRE, 2008). O método consiste na localização de antígenos em tecidos, explorado o princípio da ligação específica de anticorpos a antígenos no tecido biológico (RAMOS-VARA, 2000), utilizando anticorpos primários monoclonais (produzidos em camundongo) anti-*Aspergillus* spp. para observar se ocorre imunomarcção positiva para o determinado agente etiológico (GALIZA et al., 2014).

Barrs et al. (2015) avaliaram a sensibilidade e especificidade de testes de ELISA indireto e imunodifusão em gel de ágar (IDGA) para diagnosticar aspergilose sinonasal em gatos, comparando o soro de gatos saudáveis e de gatos com sinais de infecção respiratória superior. O teste de IDGA apresentou sensibilidade de 43% e especificidade de 100%, enquanto que o ELISA apresentou 95,2% de sensibilidade e 92,9% de especificidade. Contudo, há relatos de resultados falso-positivos e reatividade cruzada com *Penicillium* spp. (TILLEY; SMITH JR., 2008).

Exames de imagem também podem auxiliar no diagnóstico de aspergilose nasal. Saunders et al. (2004) em um estudo comparativo de exames radiográficos, tomografia computadorizada do crânio (TCC), ressonância magnética e rinoscopia em cães com aspergilose nasal identificou a extensão das lesões e grau de destruição óssea. A TCC apresentou alterações significativamente maiores quando comparada a imagens radiográficas e semelhante às imagens de ressonância magnética. Na rinoscopia foi possível a visualização de placas de coloração branca a cinza-esverdeada, que correspondem a colônias do fungo presentes na mucosa, que para diagnóstico definitivo deve ser associada a coleta de material para realização da PCR (FERNS, 2006). Peeters et al. (2008) em um teste para detecção de DNA de *A. fumigatus* por PCR a partir de amostras de tecidos nasais coletadas de cães com aspergilose sinonasal, apresentou reações com 94 e 100% de eficiência, e as amostras de tecidos mostraram maior especificidade do que as amostras de sangue.

2.6 Patologia

A infecção por *Aspergillus* spp. em gatos é mais frequentemente descoberta na necropsia (GREENE, 2015). Caracteriza-se macroscopicamente por lesão granulomatosa, frequentemente associada à necrose com grande quantidade de exsudato friável de coloração azul esverdeada, podendo recobrir a superfície mucosa dos turbinados, seios nasais e vias aéreas. Em alguns casos, pode ocorrer destruição dos cornetos (SANTOS; ALESSI, 2011). Há também a possibilidade de comprometimento nos pulmões, desencadeando o aparecimento de granulomas de cor branco-amarelada, se distribuindo de forma aleatória no parênquima, além de necrose nos ossos e cartilagens subjacentes (ZACHARY, 2018). Souto et al. (2016) descreveu aspergilose pulmonar em um cão que apresentou áreas multifocais de consolidação do parênquima, conteúdo amarelado na traqueia e no lúmen de brônquios.

A infecção disseminada pode cursar com úlceras no trato gastrintestinal e bexiga, e nessa última pode haver espessamento da parede, inflamação e fibrose. O sistema nervoso central também pode ser afetado principalmente quando há invasão da placa cribiforme (ZACHARY, 2018; SANTOS, ALESSI, 2011).

Microscopicamente, as lesões caracterizam-se por hemorragia e necrose com presença de hifas fúngicas que podem invadir os vasos sanguíneos e causar trombose (GREENE, 2015). Na coloração de hematoxilina-eosina as hifas são observadas como imagens tubiliformes negativas ou levemente basofílicas e ramificadas. Na coloração de GMS e PAS, as paredes das hifas são coradas em marrom e rosa, respectivamente, e caracterizam-se por serem paralelas com diâmetro de 10-20 μ m, septadas e com ramificações dicotômicas em ângulos agudos (GALIZA et al. 2014). Em superfícies mucosas com oxigenação abundante, pode ocorrer o desenvolvimento de conidióforos não ramificados semelhantes aos que crescem nos meios de cultivo, com presença de fiálides e conídios (SANTOS; ALESSI, 2011; CASTRO, 2017).

2.7 Diagnóstico Diferencial

Os principais diagnósticos diferenciais para a infecção nasal por *Aspergillus* spp. incluem neoplasias, rinites e sinusites alérgicas, bacterianas, virais, corpo estranho e outros agentes fúngicos que acometem as vias aéreas superiores e cursam com sinusite (FERREIRA, 2008).

Dentre os agentes fúngicos, o *Cryptococcus neoformans* é o agente mais comum que cursa com rinite granulomatosa em gatos e as lesões frequentemente se estendem para os

seios paranasais, portanto deve ser incluído no diagnóstico diferencial por suas características macroscópicas semelhantes (SANTOS; ALESSI, 2011).

O fungo do gênero *Penicillium* spp. assemelha-se microscopicamente ao *Aspergillus* spp., o que o torna o principal diagnóstico diferencial de aspergilose. Portanto, requer diferenciação para confirmação, que pode ser realizada através de exames que permitam a identificação do agente como cultura fúngica, imuno-histoquímica e PCR. (NELSON; COUTO, 2015).

As neoplasias também destacam-se como diagnóstico diferencial das infecções nasais por *Aspergillus* spp. pois, segundo Castro et al. (2017) apresentam alterações macroscópicas similares, além da alta frequência de neoplasmas em felinos na rotina clínica, a exemplo do carcinoma de células escamosas (CCE).

2.8 Tratamento

O tratamento para aspergilose é comprovadamente difícil e quanto mais rápido se obtém o diagnóstico e é instituído o tratamento, aumenta-se a possibilidade de melhores resultados (GARCIA et al., 2001).

Nos casos de aspergilose nasal, o tratamento clínico consiste no uso tópico de clotrimazol (ETTINGER; FELDMAN, 2004). O uso oral de itraconazol geralmente é realizado na forma disseminada da doença. Apesar de haver poucos relatos descritos, o itraconazol também pode ser feito quando há acometimento da placa cribriforme, e deve ser administrado na dose de 5 mg/kg a cada 12 horas (TILLEY; SMITH JR., 2008; NELSON; COLTO, 2015). Há relato de sucesso de um felino com lesões nasais por *A. fumigatus* que inicialmente foi tratado com itraconazol. Entretanto, após três meses houve recidiva e foi, portanto, utilizado o posaconazol, que após 6 meses de tratamento obteve-se cura completa (TAMBORINI et al., 2016).

Dependendo do quadro clínico e extensão das lesões, pode ser realizada a remoção cirúrgica dos tecidos onde se encontram as colônias fúngicas, combinada com aplicação tópica e/ou sistêmica de fármacos antifúngicos de escolha (TELL, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os dados do animal e aspectos clínicos foram coletados da ficha de atendimento do paciente na Clínica Médica de Pequenos Animais (CMPA) do Hospital Veterinário Adílio Santos de Azevedo (HV-ASA), do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba (IFPB), Campus Sousa-PB, Unidade São Gonçalo. Após o óbito, o animal foi encaminhado para o Laboratório de Patologia Animal (LPA) do HV-ASA, para realização da necropsia.

Na necropsia foram coletados fragmentos de tecidos da cavidade nasal, e órgãos da cavidade torácica, abdominal e sistema nervoso central. Os fragmentos foram fixados em formol tamponado a 10%. As amostras foram clivadas, processadas rotineiramente para histopatologia, seccionadas em 3 μ m e coradas por hematoxilina e eosina (HE), para observação em microscopia óptica.

Adicionalmente, secções histológicas da cavidade nasal foram selecionadas para realização de coloração histoquímica especial metenamina nitrato de prata de Grocott (GMS).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um felino, macho, sem raça definida (SRD), com 2 anos de idade, pesando 3,45 kg, foi atendido na CMPA do HV-ASA, com histórico de obstrução urinária há duas semanas. O tutor relatou que no dia anterior havia sido consultada em uma clínica veterinária particular, onde foi realizada desobstrução e retirada de dois urólitos. Entretanto, mesmo após esse procedimento, o animal permaneceu com dificuldade para urinar e se alimentar. Informou que esse animal convivia com outros dois gatos e alimentava-se de ração comercial (Chef Cat) e ingeria pouca água.

No exame de inspeção observou-se animal apático e em decúbito lateral. No exame físico geral, verificou-se frequência cardíaca de 128 bpm, frequência respiratória de 41 mpm, tempo de perfusão capilar de três segundos, desidratação de 5% e pulso periférico fraco. No exame físico específico havia distensão da bexiga por meio da palpação abdominal, além de gengivite e presença de placas bacterianas em dentes pré-molares. Foram solicitados exames complementares de hemograma, urinálise e ultrassonografia abdominal.

No hemograma foi evidenciado hemácias: $10,3 \times 10^3$ ul/ml; volume globular: 46%, VCM: 45 fL; PPT: 7,0 g/dl; plaquetas: 268.000 mm^3 e leucócitos totais: 9.750 ul/ml. Verificou-se ainda a presença de neutrófilos hipersegmentados, anisocitose e presença de equinócitos. Na urinálise observou-se urina avermelhada, com odor de sangue, turva e ligeiramente viscosa. Também foram vistos presença de eritrócitos e leucócitos no exame do sedimento. Na ultrassonografia abdominal observou-se vesícula urinária com tamanho normal, apresentando conteúdo anecóico com múltiplos focos hiperecóticos caracterizando sedimentos.

Com base no histórico, exame clínico e exames complementares, foi realizado o diagnóstico presuntivo de cistite e cálculo uretral. O animal ficou internado durante cinco dias no HV-ASA, onde foi realizada administração de dipirona 50% (25 mg/kg), meloxicam 0,2% (0,2 mg/kg) e enrofloxacin 10% (5 mg/kg), todos por via intramuscular. Adicionalmente foram realizadas lavagens da bexiga por meio de sondagem uretral e uso de glicopan (1,5ml) por via oral e tramadol 5% (1 mg/kg), via intravenosa. Contudo, o animal não apresentou melhora e optou-se pela realização da cirurgia de cistotomia para retirada dos cálculos. Após a cirurgia, o animal recebeu alta, entretanto, veio a óbito após dois dias e foi encaminhado para o LPA do HV/ASA para realização da necropsia.

Na necropsia verificou-se animal em estado corporal regular, com retração do globo ocular, mucosas oculares e oral pálidas. Na cavidade abdominal, havia aderência de omento à

serosa da bexiga e ao peritônio. A bexiga estava distendida e com parede espessada e a mucosa com áreas multifocais a coalescentes avermelhadas (Figura 2). Na abertura da caixa craniana, verificou-se no seio paranasal esquerdo a presença de exsudato, firme, semelhante a uma massa, com aproximadamente três cm de diâmetro, amarelo esverdeado, com superfície irregular às vezes recoberta por material floculado acinzentado (Figura 3 A e B). Ao remover esse exsudato, verificou-se que a superfície do seio nasal estava avermelhada. O fígado apresentava-se aumentado de volume, com bordas arredondadas e superfície capsular com evidenciação do padrão lobular caracterizada por áreas avermelhadas entremeadas por áreas pálidas, que ao corte, aprofundavam-se ao parênquima. Não foram observadas lesões macroscópicas significativas em outros órgãos.



Figura 1- Sinusite por *Aspergillus* spp. em um felino. Observa-se na mucosa da bexiga áreas multifocais a coalescentes avermelhadas.

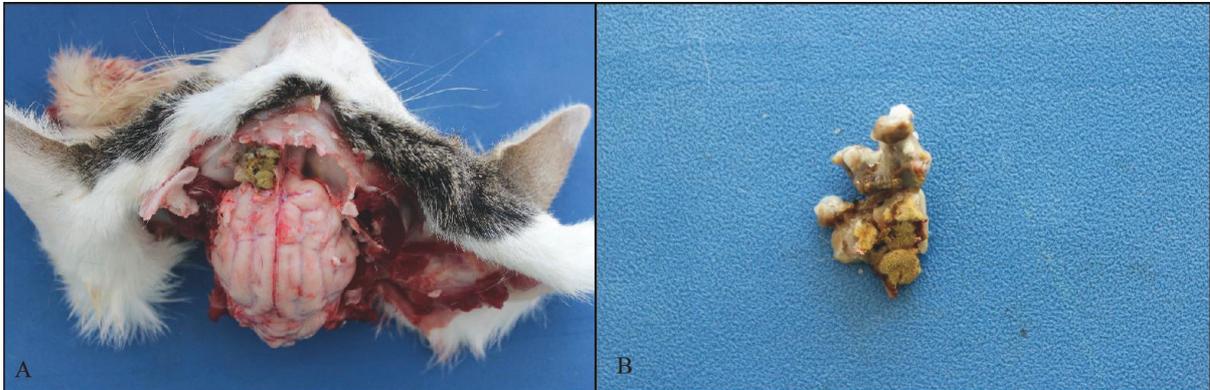


Figura 2- Sinusite por *Aspergillus* spp. em um felino. A. Observa-se exsudato amarelo esverdeado ocluindo o seio nasal esquerdo. B. Exsudato, firme, semelhante a uma massa, com aproximadamente três cm de diâmetro, amarelo esverdeado, com superfície irregular às vezes recoberta por material floculado acinzentado.

No exame histopatológico verificou-se que o exsudato presente no seio nasal esquerdo correspondia a material eosinofílico e necrótico associado à debris celulares e neutrófilos. Em meio a esse exsudato verificou-se miríades de imagens negativas de estruturas tubuliformes, semelhantes a hifas, em cortes transversais e longitudinais. Algumas hifas apresentavam citoplasma basofílico (Figura 4A). Na extremidade do material necrótico verificou-se que raras hifas demonstravam extremidade balonosa (vesícula), recoberta por cadeias de conídios (esporos) e fiáides, dispostos radialmente característicos de conidióforos (Figura 4B). Nas secções coradas em GMS, observou-se que as hifas e conidióforos coraram em marrom. As hifas apresentavam paredes finas e paralelas, septadas e por vezes com ramificações dicotômicas (Figura 4 C e D).

Na bexiga observou-se mucosa difusamente ulcerada, caracterizada por perda do epitélio associada a material eosinofílico fibrilar e infiltrado inflamatório moderado constituído predominantemente por neutrófilos, além de linfócitos e plasmócitos. Esse infiltrado às vezes estendia-se à submucosa e estava associada às vezes a áreas multifocais de hemorragia. Adjacente a essas áreas de necrose observou-se áreas multifocais de fibrose, caracterizada pela proliferação de fibroblastos reativos, além de congestão de vasos sanguíneos e hemorragia. Na túnica muscular e serosa observaram-se discretas áreas multifocais a coalescente de infiltrado inflamatório predominantemente neutrofilico, associado à discreta reatividade de células mesoteliais em serosa. No fígado observou-se áreas

multifocais aleatórias discretas de macrovacuolizações no citoplasma de hepatócitos, bilestase discreta em hepatócitos principalmente na zona centrolobular associado à congestão de sinusóides.

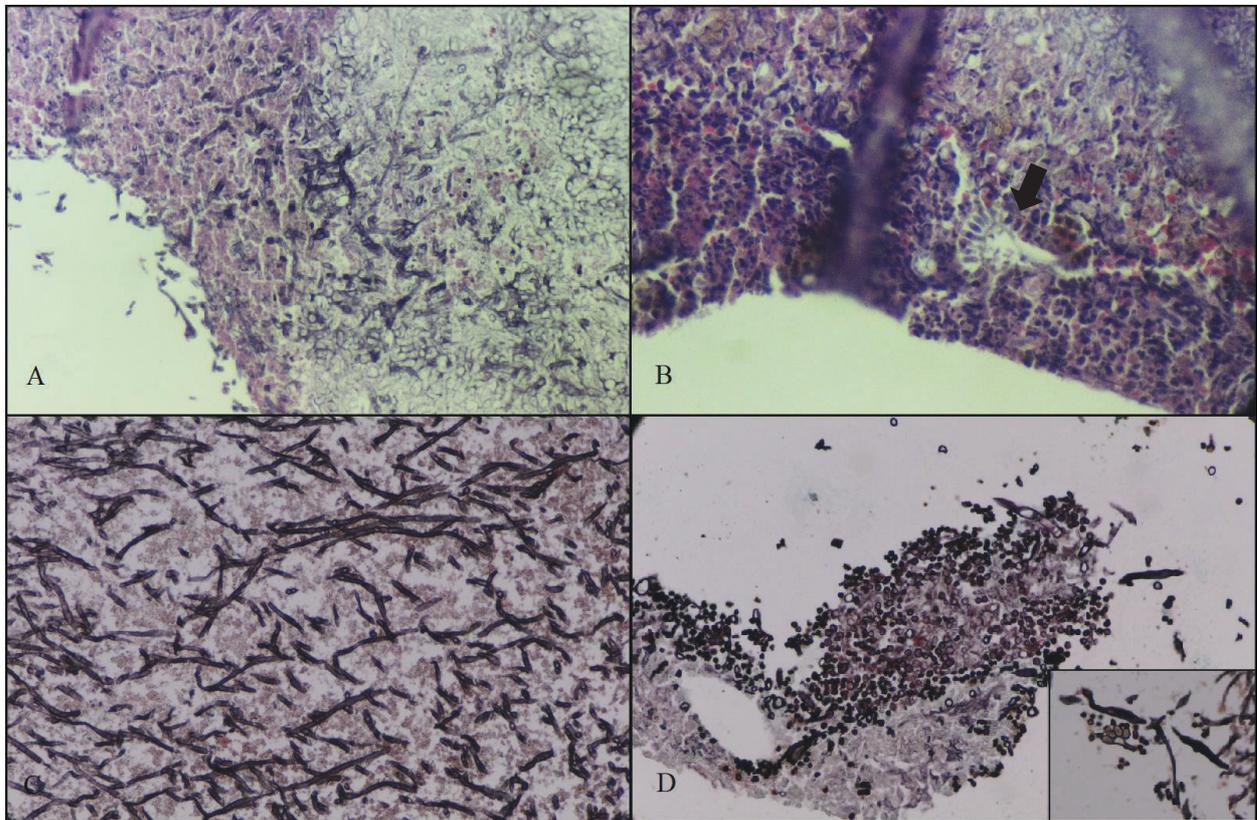


Figura 3- Sinusite por *Aspergillus* spp. em um felino. A- Observa-se exsudato caracterizado por material eosinofílico e debris celulares associado a miríades de imagens negativas de estruturas tubuliformes, semelhantes a hifas, em cortes transversais e longitudinais, algumas com citoplasma basofílico. HE Obj.10x; B- Observa-se na extremidade do material necrótico, hifa demonstrando extremidade balonosa (vesícula), recoberta por cadeias de conídios (esporos), característicos de conidióforos. HE. Obj. 40x; C- Observam-se miríades de hifas coradas em marrom, com paredes finas e paralelas, septadas em cortes longitudinais. GMS. Obj. 40x; D- Observam-se miríades de hifas em cortes transversais e longitudinais, além de conidióforos (em detalhe). GMS. Obj.10x.

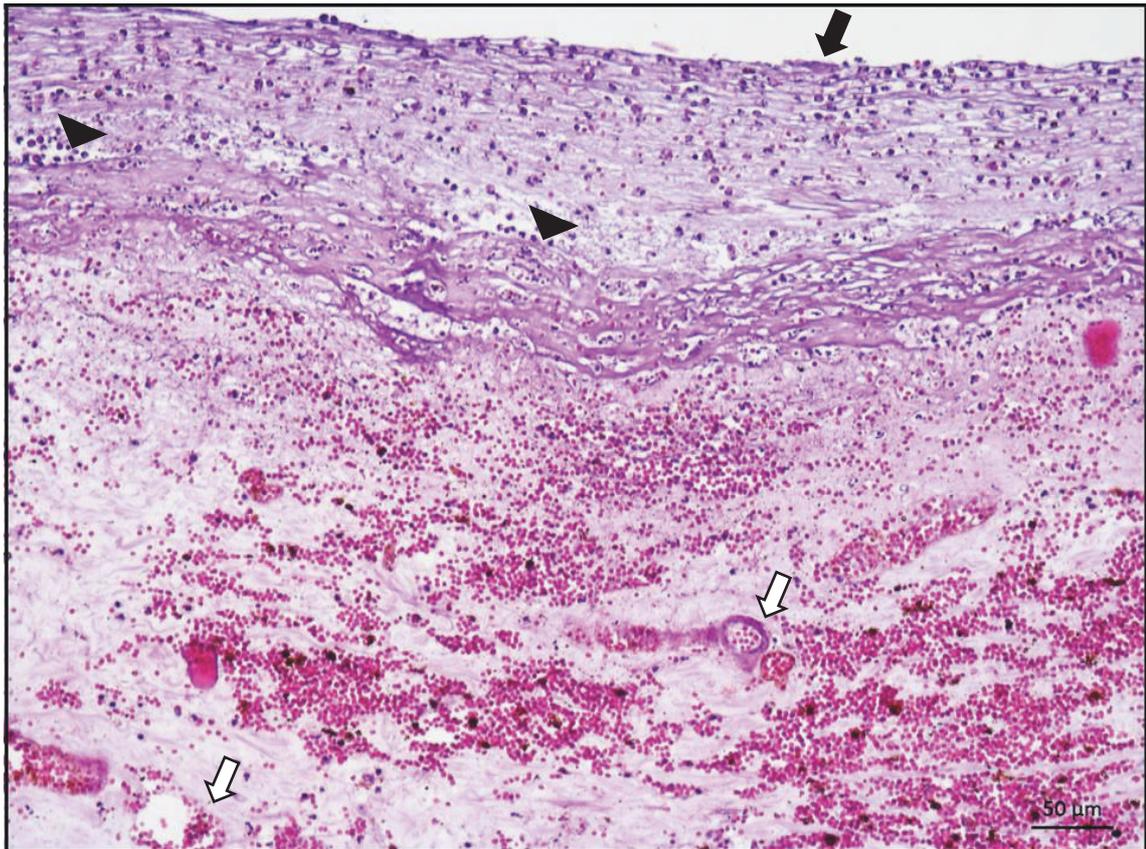


Figura 4- Sinusite por *Aspergillus* spp. em um felino. Bexiga. Observa-se mucosa ulcerada, caracterizada por perda do epitélio associada a material eosinofílico e fibrilar (seta preta), além de infiltrado inflamatório predominantemente neutrofílico (cabeça de seta). Adjacentes às áreas de necrose, observa-se na submucosa proliferação de tecido conjuntivo fibroso associado a áreas multifocais de hemorragia e congestão de vasos sanguíneos (seta branca). HE. Obj.40x.

O diagnóstico de sinusite por *Aspergillus* spp. foi estabelecido com base nos aspectos macroscópicos e microscópicos do exsudato no seio nasal e características morfotintoriais do agente. O exsudato possuía características macroscópicas semelhantes ao descrito por outros autores, entretanto não foram vistos granulomas e as lesões associadas ao agente ficaram restritas ao seio nasal. As lesões macroscópicas associadas à infecção por *Aspergillus* spp, cursam geralmente com inflamação granulomatosa, frequentemente associada à necrose com grande quantidade de exsudato friável de coloração azul esverdeada, podendo recobrir a superfície mucosa dos ossos turbinados, seios nasais e vias aéreas (SANTOS; ALESSI, 2011). Apesar de não ter sido realizados exames adicionais como imunohistoquímica, cultivo microbiológico e PCR, a observação de conidióforos não ramificados é semelhante aos que crescem nos meios de cultivo, com presença de fiálides e conídios (SANTOS; ALESSI, 2011; CASTRO, 2017), além de hifas septadas com ramificações em ângulo agudo fundamentaram o diagnóstico de sinusite por *Aspergillus* spp. Considera-

se que os conidióforos são formados quando hifas são expostas a oxigenação abundante, como os seios nasais (SANTOS; ALESSI, 2011; CASTRO, 2017).

De acordo com Quinn et al. (2005), a principal forma de infecção por *Aspergillus* spp. é através da inalação dos esporos e ocasionalmente por ingestão ou trauma tecidual. No presente caso, não foi possível estabelecer a via de infecção, entretanto, as lesões associadas ao agente foram vistas no seio nasal, sugerindo que a infecção ocorreu por via inalatória.

Em gatos, a infecção por *Aspergillus* spp. tem ocorrido principalmente associadas a doenças imunossupressoras como a panleucopenia felina, peritonite infecciosa e leucemia felina (GREENE, 2015). Contudo, fatores nutricionais, utilização de antibióticos e corticóides por período prolongado, animais submetidos a tratamentos oncológicos ou alta exposição de conídios do agente também são considerados fatores que podem favorecer a infecção por esse agente (JONES et al., 2000; DAY et al., 2012). No presente caso, não foram realizados exames sorológicos que permitissem descartar infecções virais assintomáticas. Apesar da obstrução urinária recorrente e confirmada cistite necrohemorrágica associada à fibrose, causarem debilidade não há como comprovar que favoreceram a infecção por *Aspergillus* spp.

Apesar da infecção por *Aspergillus* spp. ocorrer principalmente de forma crônica as características da inflamação neste caso sugerem infecção aguda. Possivelmente, se o gato do presente relato não tivesse desenvolvido quadros de obstrução urinária e cistite necrohemorrágica, com desidratação e debilidade, que possivelmente foram responsáveis por sua morte, a infecção por *Aspergillus* spp. poderia ter evoluído para forma pulmonar e/ou sinorbital e disseminada. De acordo com WESTROPP (2005) o quadro de cistite é uma das consequências clínicas mais comuns da urolitíase, pois o cálculo promove fricção na parede do órgão que resulta em sangramento e bloqueio do fluxo urinário, podendo levar o animal a óbito.

Chamou atenção no presente caso a ausência de lesões na cavidade nasal e em outros órgãos, tendo em vista que em gatos os quadros de sinusite ocorrem principalmente por extensão das lesões da cavidade nasal e podem cursar com osteólise (GREENE, 2015). Adicionalmente, apesar da oclusão de um dos seios nasais, não foram relatados sinais clínicos característicos de quadros de sinusite em gatos, que incluem secreção nasal mucopurulenta, espirros, edema facial ou secreção da fistula sinonasal e epistaxe intermitente (GREENE, 2015; TAMBORINI et al., 2016). Nesse caso, a lesão unilateral, pode não ter causado obstrução do seio nasal causando obstrução suficiente do fluxo de ar para provocar ruídos. Adicionalmente, o exsudato com aspecto mais seco e friável,

possivelmente pode ter contribuído para a ausência de apresentação de secreção nasal, dificultando o diagnóstico clínico. Portanto, nesse caso, o diagnóstico realizado na necropsia, considerado como um achado, por não ter correlação com a causa do óbito. Entretanto, destaca-se que infecções por esse agente em animais de companhia são responsáveis por quadros clínicos graves, que em função do diagnóstico tardio e dificuldade de tratamento eficiente resultam em morte.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Chama-se a atenção a ocorrência da sinusite por *Aspergillus* spp. em gato como achado de necropsia, sendo portanto, necessário incluí-la na lista de diagnósticos diferenciais de patologias semelhantes. Destaca-se a importância da realização de necropsia para o diagnóstico desse caso e a avaliação dos seios paranasais nessa espécie, mesmo na ausência de exsudato nasal, tendo em vista que podem ter alterações que nem sempre são identificadas clinicamente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARACHETTI, L. et al. Bilateral orbital and nasal aspergillosis in a cat. **Veterinary Ophthalmology**, v. 12, p. 176-182, 2009.
- BARRS, V. R. et al. Aspergillus felis: um agente emergente de aspergilose invasiva em humanos, gatos e cães. **PLoS One**, v. 8 n. 6, e64871, 2013.
- BARRS, V. R. et al. **Feline sino-orbital aspergillosis: an emerging clinical syndrome?** Proceedings of the 25th Annual ACVIM Forum, Seattle, WA: 579, 2007.
- BARRS, V. R. et al. Detecção de anticorpos específicos para Aspergillus por dupla imunodifusão de ágar gel e IgG ELISA na aspergilose do trato respiratório superior em felinos. **The Veterinary Journal**. v. 203, n. 3, p. 285-9, 2015.
- BARRS, V. R. et al. Sinonasal and sino-orbital aspergillosis in 23 cats: aetiology, clinicopathological features and treatment outcomes. **The Veterinary Journal**, v. 191, p. 58-64, 2012.
- BARRS, V. R., TALBOT, J. Feline Aspergillosis. *Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice*, v. 44, p. 51-73, 2014.
- BENITAH, N. Canine nasal aspergillosis. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 21, p. 82-88, 2006.
- CACCIUTTOLO, E. et al. Anatomopathological aspects of avian aspergillosis. **Veterinary Research Communications**, v. 33, p. 521-527, 2009.
- CASTRO N.B. et al. Doenças micóticas em gatos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1313-1321. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre- RS, 2017.
- COSTA, A. S. et al. Feline Sino-orbital Fungal Infection Caused by Aspergillus and Scopulariopsis. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. 1, p. 383, 2019.
- COSTA F.V.A. et al. Aspergilose sino-nasal e sino-orbital em um gato persa. **Archives of Veterinary Science**, v. 17, p 245-247, 2012.
- DAY, M. J. et al. Aspergillosis and Penicilliosis. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat. 4th edn.** St. Louis: Elsevier, p. 1354-1370, 2012.
- ETTINGER, J. S.; FELDMAN, C. E. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato.** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 2236p.
- EYZAGUIRRE, E.; HAQUE, A. K. Application of immunohistochemistry to infections. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**. v. 132, n. 3, p. 424-431, 2008.
- FERNS, R.B. **Evaluation of the role of real-time PCR in the diagnosis of invasive aspergillosis.** *Leuk. Lymphoma*, v. 47, p. 15– 20, 2006.

FERREIRA, R. R. **Pesquisa sorológica de *Aspergillus fumigatus* e cultivo fúngico de amostras obtidas de cães com descarga nasal.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2008.

FLAMMER, K.; OROSZ, S. Avian mycoses: managing these difficult diseases. In: E. BERGMAN. **Proceedings of the 29th Annual Conference & Expo of the Association of the Avian Veterinarians with the Association of the European College of Avian Medicine and Surgery**, p. 153, Savannah, GA, USA, 2008.

GALIZA et al. Utilização de três métodos imuno-histoquímicos na detecção de aspergilose e zigomicose em animais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n.7, Rio de Janeiro, 2014.

GALIZA G. J. N. et al. Ocorrência de micoses e pitiose em animais domésticos: 230 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 3, p. 224-232. Laboratório de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, Camobi, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil, 2014.

GARCIA, M. E. et al. The value of the determination of anti-*Aspergillus* IgG in the serodiagnosis of canine aspergillosis: comparison with galactomannan detection. **Journal of Veterinary Medicine Series B**, v. 48, n. 10, p. 743-50, 2001.

GIORDANO, C. et al. Invasive mould infections of the naso-orbital region of cats: a case involving *Aspergillus fumigatus* and an aetiological review. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 12, p. 714-723, 2010.

GREENE, C. E. **Doenças Infecciosas em cães e gatos.** Rio de Janeiro: Editora Roca, 2015. 1406p.

HAMILTON, H. L. et al. Exophthalmos secondary to aspergillosis in a cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 36, p.343-347, 2000.

HARTMANN, K. et al. Aspergilose em gatos. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 7, p. 605–610, 2013.

JONES, T. C. et al. **Patologia Veterinária.** 6 ed. São Paulo: Malone, 2000. 1424p.

KIM, S.H. et al. *Aspergillus niger* pulmonary infection in a dog. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 65, p. 1139-1140, 2003.

KLICH, M. A. *Aspergillus flavus*: the major producer of aflatoxin. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 6, p. 713-722, London, 2007.

MEIRELES, M. C. A.; NASCENTE, P. S. **Micologia Veterinária.** Pelotas: Ed. Universitária UFPEL, 2009. 543p.

NARDONI, S. et al. Aspergillosis in *Larus cachinnans miccaellis*: survey of eight cases. **Mycopathologia**, v. 161, p. 317-321, 2006.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.1512, 2015. 1512p.

PEETERS, D.; CLERCX, C. Update on canine sinonasal aspergillosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 37, p. 901-916, 2007.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, p. 229-232, 2005.

RAMOS-VARA, J. A.; BEISSENHERZ, M. E. Optimization of immunohistochemical methods using two different antigen retrieval methods on formalin-fixed paraffin-embedded tissues: experience with 63 markers. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 12, n. 4, p. 307-311, 2000.

SANCHES, P. P.; COUTINHO, S. D. A. Aspergilose em cães: revisão. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, v. 25, n. 4, p. 391-397, 2007.

SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia Veterinária**. 2. ed. São Paulo: ROCA, 2011. 856p.

SAUNDERS, J. H. et al. Radiographic, magnetic resonance imaging, computed tomographic, and rhinoscopic features of nasal aspergillosis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 225, n. 11, p.1703-12, 2002.

SOUTO E.P.F. et al. Aspergilose pulmonar associado a infarto agudo do miocárdio em cão. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, p. 1-5, 2016.

SHARMAN, M. J.; MANSFIELD, C. S. Aspergilose nasossinusal em cães: uma revisão. **Journal of Small Animal Practice**, v. 53, n. 8, p. 434-44, 2012.

SYKES, J. E. **Canine and Feline Infectious Diseases**. EBOOK, St. Louis: Elsevier Saunders, p. 915, 2014.

TAMBORINI, A. et al. Aspergilose nasossinusal em um gato britânico de pêlo curto no Reino Unido. **JFMS Open Rep**. v. 2, n. 1, p. 205-215, 2016.

TEIXEIRA, F. S. **Ocorrência de aspergilose pulmonar em cães com sintomatologia respiratória atendidos no HCV – UFRGS, Porto Alegre**. 58 f. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina Veterinária, Porto Alegre – RS, 2012.

TELL, L. A. Aspergillosis in mammals and birds: impact in veterinary medicine. **Medical Mycology**, v. 43, p. 71-73, 2005.

TILLEY, L. P.; SMITH JR., F. W. K. **Consulta veterinária em 5 minutos: espécies canina e felina**. 3. ed. Barueri-SP: Manole, 2008. 1604p.

WESTROPP, J. L. et al. Feline Lower Urinary Tract Diseases p. 1828-2850. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. v. 2, Elsevier Saunders, St. Louis, 2005.

ZACHARY, J. F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018. 1389p.