

OS FUNGOS COMO AGENTES PATOGENICOS DOS ANIMAIS

Como agentes patogénicos, os fungos (bolor e leveduras) têm menos relevância para os animais do que para as plantas, existindo relativamente poucas espécies de fungos que sejam patogénicas para os animais. As doenças causadas por fungos são denominadas micoses e os animais domésticos ou de companhia são normalmente afetados pelas mesmas micoses que o Homem, podendo haver transmissão entre eles. No entanto, dado que existe uma grande diversidade de fungos disseminados por diversos habitats, ocorrem micoses exclusivas dos animais falando-se em micologia veterinária. Neste artigo iremos abordar algumas micoses que podem afetar os animais, e também o Homem, e que são identificadas no laboratório de bacteriologia e micologia do INIAV.

O Reino dos fungos e sua importância

O Reino Fungi é um dos cinco reinos que constituem o mundo vivo, juntamente com o Reino das Plantas, dos Animais, das Bactérias e dos Protistas. Podemos, basicamente, distinguir os fungos como um Reino à parte pelas seguintes características:

- Serem organismos eucariotas (possuem sistema membranar, ao contrário das bactérias);
- Serem heterotróficos (não possuem clorofila, sendo incapazes de fazer fotossíntese, ao contrário das plantas e das algas);
- Possuírem parede celular rígida e serem imóveis (ao contrário dos animais);
- Serem sapróbios (desenvolvem-se em matéria morta em decomposição) ou parasitas (desenvolvem-se em tecidos vivos);
- Existirem na forma unicelular, como a levedura da cerveja, ou filamentosa, como o bolor do pão;
- Reproduzirem-se sexual ou assexualmente (em muitos fungos apenas se conhece a forma assexuada ou anamórfica);
- Serem resistentes aos antimicrobianos.

A estrutura dos fungos pode ser:

- Unicelular, ou forma de levedura ou leveduriforme, caracterizada por uma só célula que se reproduz assexualmente por gemulação formando outras células, sendo as colónias normalmente mucosas (Figura 1). São exemplo: *Cryptococcus neoformans*, que é uma levedura que quando se reproduz sexualmente é um basidiomicete, e *Candida albicans*, que na forma sexuada pertence à família dos ascomicetes.

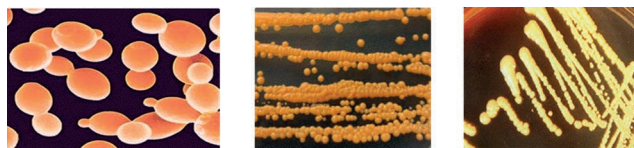


Figura 1 – Forma leveduriforme. Microscópica: células unicelulares em gemulação; Macroscópica: culturas mucosas.

- Filamentosa, ou forma de bolor ou miceliana, caracterizada por micélio constituído por filamentos ou hifas que produzem uma grande variedade

Ana Botelho

Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária



Instituto Nacional de
Investigação Agrária e
Veterinária, I.P.

de esporos assexuados. Muitos bolores são identificados pela morfologia destes esporos e pela sua disposição nas hifas. As estruturas conhecidas por cogumelos são frutificações do micélio (Figura 2) e resultam da conjugação de esporos de “sinal” contrário (reprodução sexuada) originando mais esporos sexuados que vão completar o ciclo.

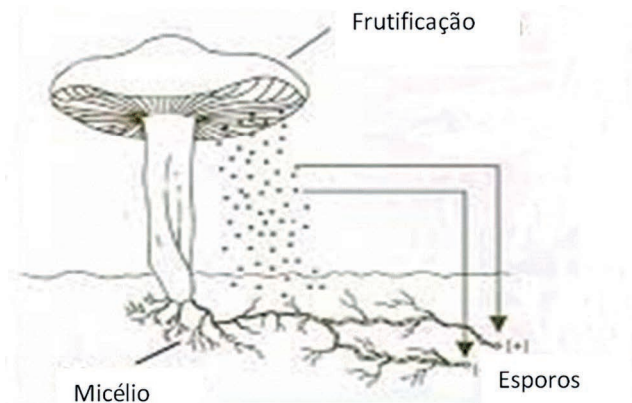


Figura 2 – Forma filamentosa. Exemplo do ciclo de um fungo (neste caso basidiomicete) de estrutura miceliana e que, na eventual conjugação de esporos sexuados de sinal contrário, pode originar frutificações conhecidas por cogumelos, que irão produzir esporos sexuados.

Os fungos, devido à sua ubiquidade e diversidade, têm um papel constante, mais ou menos discreto, umas vezes prejudicial outras vezes benéfico, no ambiente, na agricultura e na indústria, nomeadamente alimentar.

Os fungos são responsáveis pela decomposição de matéria orgânica na natureza e nas nossas casas, convivendo permanentemente connosco. Na agricultura melhoram a produtividade dos solos, mas são também agentes da maior parte das doenças das plantas, causando graves perdas económicas em culturas vegetais.

No entanto, também estão na base de inúmeros processos industriais como o fabrico do pão, de vinhos e de cervejas, a fermentação da semente de cacau para a produção do chocolate e a preparação de alguns queijos. São ainda usados na produção de ácidos orgânicos, de algumas vitaminas e de antibióticos como a penicilina, o primeiro antibiótico a ser descoberto em 1928.

Na gastronomia, e sob o ponto de vista epicurista, muitas pessoas se deliciam com algumas das inúmeras variedades de cogumelos comestíveis, sendo muitas vezes difícil para um leigo distingui-las, na natureza, dos cogumelos venenosos.

Destas inúmeras facetas dos fungos, vamos-nos focar nos fungos como agentes causadores de doenças infecciosas nos animais. Sendo algumas das micoses zoonóticas, ou seja, transmissíveis dos animais ao Homem, este também estará englobado, juntando-se a Micologia Médica, relacionada com micoses em humanos, com a Micologia Veterinária, mais focada nas micoses dos animais. As intoxicações alimentares devido à ingestão de cogumelos venenosos, ou as micotoxicoses devido à ingestão de metabolitos de fungos como *Aspergillus flavus* (aflatoxinas) não serão abordados por não serem doenças infecciosas.

Patogenia dos fungos

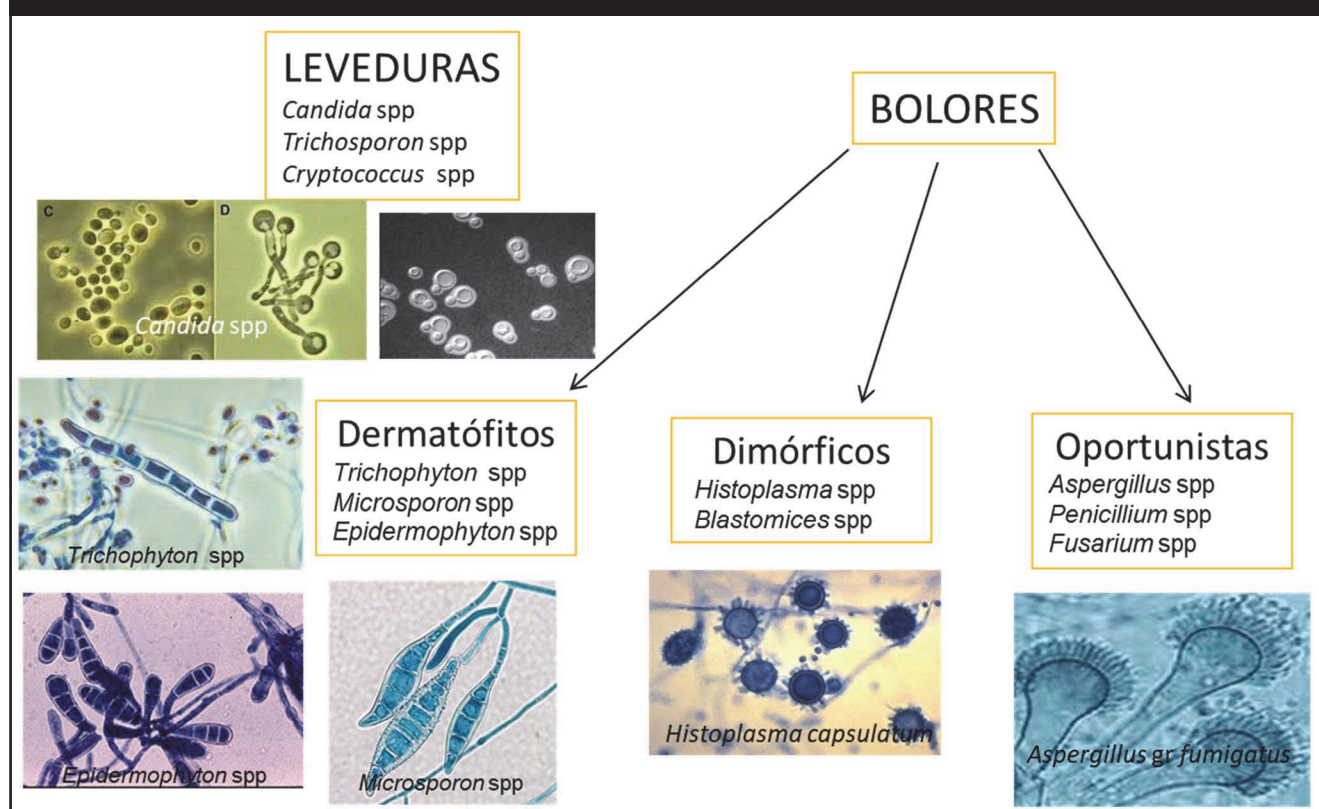
Estima-se que das cerca de 2,2 a 3,8 milhões de espécies de fungos conhecidas atualmente, pouco mais de 400 são causadoras de doenças nos animais. A capacidade de os fungos causarem doença parece ser um fenómeno accidental, visto que, com exceção de alguns dermatófitos, a patogenicidade não é necessária para a manutenção ou disseminação das espécies fúngicas.

Em geral, o desenvolvimento de micoses está mais relacionado com o estado imunológico e com a exposição, normalmente ambiental, do hospedeiro aos fungos, do que com a capacidade de infeção deste. A infeção em animais imunologicamente competentes apenas ocorre com determinados fungos que têm capacidades enzimáticas únicas, possuem dimorfismo térmico e conseguem bloquear as defesas do hospedeiro.

A maior parte dos fungos são, portanto, considerados oportunistas e com uma baixa virulência intrínseca, causando infeção quase exclusivamente em hospedeiros debilitados, com poucos mecanismos de defesa. As infeções fúngicas deste tipo são, principalmente, candidiases, criptococoses e aspergiloses, sendo mais de 95% associadas a *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus fumigatus*.

Quadro 1 – Dimorfismo de algumas espécies de fungos e patogenia dependente das condições ambientais

Fungos	Forma filamentosa	Forma levedura	Forma patogénica
<i>Candida albicans</i>	37 °C/pH alcalino	25 °C/ pH ácido	Filamentosa
<i>Blastomyces dermatitidis</i>	20–25 °C	37 °C	Levedura
<i>Histoplasma capsulatum</i>	20–25 °C	37 °C	Levedura
<i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Cryptococcus gattii</i>	25 °C/H ₂ O-	37 °C/H ₂ O+	Levedura

PRINCIPAIS GRUPOS DE FUNGOS PATOGENICOS

Alguns fungos patogénicos ou potencialmente patogénicos, apresentam dimorfismo, ou seja, podem alternar entre a forma de levedura e a forma filamentosa, consoante as condições externas ambientais, como o pH e a temperatura, sendo a patogenia dependente da forma em que se encontram (Quadro 1).

Tipos de micoses**Dermatomicoses**

Micoses superficiais, cutâneas ou dermatomicoses

Os fungos causadores utilizam a queratina. Afetam a pele, unhas, penas, pelo ou cabelo. Quando causadas por fungos **dermatófitos** denominam-se **dermatofitoses**.

Nas micoses cutâneas, ou dermatomicoses, nenhum tecido vivo é invadido mas ocorrem alterações visíveis nas zonas infetadas, resultantes da presença do agente infeccioso, dos seus metabolitos e da reação alérgica e da resposta inflamatória do hospedeiro, estando o tipo e a severidade desta resposta relacionados com a espécie e a estirpe do dermatófito que causa a infeção.

Dermatofitoses são das mais conhecidas dermatomicoses, também comumente conhecidas por tinfas, que infetam preferencialmente o couro cabeludo e zonas pilosas, mas também as unhas e pele (Figura 3), tendo a capacidade de utilizar a querati-

na visto possuírem a enzima queratinase.

Outra particularidade dos dermatófitos é que são os únicos fungos patogénicos obrigatórios, pois dependem da infeção humana ou animal para sobreviverem e disseminarem-se.

Os dermatófitos podem-se agrupar em três grupos epidemiológicos consoante a sua origem:

CLASSIFICAÇÃO DOS DERMATÓFITOS

- 1. Zoofílicos** – Infetam principalmente os animais, mas podem transmitir-se aos humanos que contactem com os animais. Ex: *Microsporon canis*.
- 2. Antropofílicos** – Infetam os humanos e raramente se transmitem aos animais, provavelmente após contacto com o humano. Ex: *Trichophyton rubrum*, *Microsporum audouinii*, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton tonsurans* e *Trichophyton violaceum* só têm capacidade de infetar o Homem.
- 3. Geofílicos** – Ocorrem naturalmente no solo como sapróbios de detritos com queratina, mas podem infetar os animais e os humanos que contactem com o solo. Ex: *Microsporum gypseum*.



Figura 3 – Das espécies de dermatófitos mais comuns, algumas infetam habitualmente o Homem como *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton rubrum* ou *T. mentagrophytes* agentes, respetivamente, do pé-de-atleta e da tinha, ou os animais e o Homem como *Microsporon canis*.

Micoses sistémicas

Micoses sistémicas ou profundas

Micoses dimórficas. Exemplos:
Histoplasma capsulatum; *Candida albicans*
Micoses oportunistas
(hospedeiros imunodeprimidos)

As micoses sistémicas envolvem órgãos vitais, podendo ser crónicas e, em casos raros, fatais. A entrada no organismo dá-se através de feridas abertas ou da inalação de esporos de fungos que existem no solo e no ambiente. A corrente sanguínea ou o sistema respiratório conduzem o fungo aos diversos órgãos do hospedeiro, podendo originar infeções internas em qualquer local.

Histoplasmose é uma infeção intracelular do siste-

Espécies mais comuns de dermatófitos

Espécies	Habitat natural	Incidência
<i>Epidermophyton floccosum</i>	Humanos	Comum
<i>Trichophyton rubrum</i>	Humanos	Muito Comum
<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i>	Humanos	Comum
<i>Trichophyton tonsurans</i>	Humanos	Comum
<i>Trichophyton violaceum</i>	Humanos	Pouco Comum
<i>T. mentagrophytes</i> var. <i>mentagrophytes</i>	Roedores	Comum
<i>Trichophyton equinum</i>	Cavalos	Raro
<i>Trichophyton verrucosum</i>	Bovinos	Raro
<i>Microsporum canis</i>	Gatos	Comum
<i>Microsporum gypseum</i>	Solo	Comum
<i>Microsporum nanum</i>	Solo/Suínos	Raro
<i>Microsporum cookei</i>	Solo	Raro

ma reticuloendotelial causada pela inalação de esporos do fungo *Histoplasma capsulatum*, existentes no solo contaminado com fezes de aves ou de morcegos, e pode ocorrer nos humanos e nos cães, sendo rara noutros animais. O fungo forma cápsulas nos pulmões e através da corrente sanguínea pode infectar rapidamente outros órgãos causando infecção aguda muitas vezes fatal (Figura 4). Não há evidências de transmissão da infecção entre hospedeiros, seja humano ou animal.

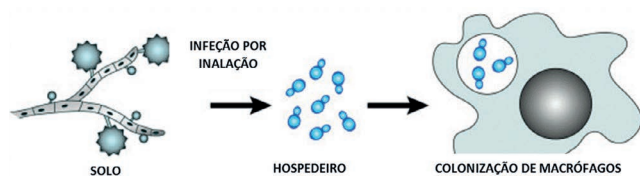


Figura 4 – Fluxo de infecção por *Histoplasma capsulatum*.

Não sendo muito comum, esta micose ficou mais conhecida em 1997 pelo facto de Bob Dylan ter sido hospitalizado em risco de vida devido a histoplasrose.

Aproximadamente 95% dos casos de histoplasmoses são inaparentes, subclínicas ou benignas e quando há sintomas estes são semelhantes aos da tuberculose. Cinco por cento dos casos progridem para doença pulmonar crónica, cutânea ou sistémica que pode vir a ser fulminante e fatal.

Candidíase é uma micose primária ou secundária muito comum, causada por membros do género *Candida* que existe nas zonas mucosas dos humanos e dos animais como comensal. A manifestação clínica pode ser aguda, subaguda, crónica ou episódica e pode afetar a cavidade bucal, garganta, pele (Figura 5), couro cabeludo, unhas, dedos, vagina, pulmões e trato gastrointestinal ou tornar-se sis-



Figura 5 – Candidíase na cavidade oral e na pele.

témica no caso de septicemia, endocardites e meningites.

Em indivíduos saudáveis, as candidíases ocorrem habitualmente quando a barreira epitelial está alterada e ocorre em qualquer idade com mais incidência em bebés e pessoas idosas.

As candidíases sistémicas observam-se habitualmente em hospedeiros com o sistema imunológico debilitado, e nos que fazem terapias agressivas ou imunossupressoras.

A espécie de *Candida* que mais frequentemente causa micoses é *Candida albicans* e, mais raramente, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr* (*C. pseudotropicalis*) e *C. (torulopsis) glabrata*.

Isolamento de <i>Candida</i> spp em diferentes mucosas			
	Oral	Gastro	Vaginal
<i>C. albicans</i>	70%	51%	69%
<i>C. glabrata</i>	7%	10%	12%
<i>C. tropicalis</i>	7%	2%	6%

Criptococose é uma micose causada por *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii* que existe muito frequentemente em fezes de aves como os pombos, e pode apresentar-se na forma crónica, subaguda, aguda ou sistémica, afetando o sistema nervoso central e as meninges, mas também pulmões, pele (Figura 6) e ossos. As infecções pulmonares são usualmente subclínicas, mas ao disseminar-se no hospedeiro o alvo preferencial é o sistema nervoso central.



Figura 6 – Lesões da pele provocadas por *Cryptococcus gattii*; isolamento cultural e observação microscópica.

Aspergilose causada por membros do género *Aspergillus* provoca alergias, mas pode haver desenvolvimento no interior do organismo, através da

inalação de esporos, originando processos invasivos, inflamatórios, granulomatosos e necrosantes fundamentalmente nos pulmões. A gravidade da doença dependerá do estado imunológico do hospedeiro e, sendo um género cosmopolita, da espécie de *Aspergillus* envolvida, sendo as mais importantes, sob o ponto de vista de patogenicidade, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans* e *A. terreus*. A maioria das espécies existe na vegetação em decomposição, ensilagem, alimentos para animais, e se as condições de temperatura e humidade forem favoráveis observam-se a olho nu culturas nestes substratos. Sendo os membros do grupo *Aspergillus fumigatus* termofílicos estão adaptados a desenvolver-se a temperaturas de 50 a 55 °C. Esta espécie é muito comum em aves, infetando principalmente os pulmões e causando mortalidade elevada (50% a 90%) em explorações avícolas.

O fungo também pode infetar os ovos embrionados nas incubadoras (Figura 7), assim como o útero de vacas grávidas e, através da placenta, desenvolver-se no feto causando aborto. Calculou-se que 64% de abortos em bovinos foram devidos a infeção com *Aspergillus fumigatus*.

Resumindo, as principais micoses que podem infetar os animais de sangue quente e o Homem são as que constam no Quadro 2.



Figura 7 – Infeção pulmonar e embrionária de aves com *Aspergillus fumigatus*.

Tratamento das micoses

Conhecendo as fontes de infeção habituais dos fungos, o modo como se transmitem e as características imunológicas do hospedeiro, a prevenção é a melhor medida a aplicar para prevenir micoses. Cuidados de higiene e boas condições sanitárias, como ambientes arejados e limpos, ajudam a prevenir algumas micoses, principalmente as superficiais.

Para tratamento de micoses sistémicas usa-se habitualmente a anfotericina B, quando os fungistáticos do grupo dos azóis não têm efeito. Nas dermatomicoses, os antifúngicos usados são também azóis como fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol ou imidazol.

Quadro 2 – Principais micoses infetantes de animais de sangue quente

Micoses	Fungo	Local de infeção	Fonte de infeção
Dermatofitoses	<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporum gypseum</i> , <i>M. canis</i>	Pele, pelo, penas, cabelo, unhas, pés	Solo, ar, contacto com esporos
Histoplasmoses	<i>Histoplasma capsulatum</i>	Pulmões	Solo, ar, inalação de esporos
Blastomicoses	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Pulmões, pele, trato urogenital, cérebro	Solo, ar, inalação de esporos
Candidíases	<i>Candida albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. krusei</i>	Mucosas, trato intestinal, trato vaginal, cavidade oral, pele, dedos	Flora endógena comensal, contacto com secreções de pessoa infetada
Criptococoses	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Pulmões, meninges, rins, fígado, próstata, ossos	Solo, contacto com fezes de aves
Aspergiloses	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i>	Pulmões	Solo, inalação de esporos

O diagnóstico laboratorial dos fungos patogénicos

A identificação correta dos fungos requer grande experiência e treino especializado pois baseia-se, maioritariamente, em características morfológicas, macroscópicas e microscópicas (Figura 8), e pode ser morosa.

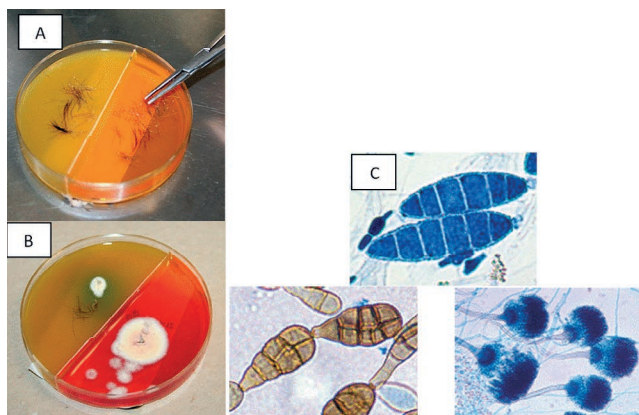


Figura 8 – A. Inoculação de amostras em diferentes meios de cultura seletivos a incubação a diferentes temperaturas (25 °C, 35–37 °C, 45 °C); B. Observação macroscópica das colónias desenvolvidas: textura, cor, superfície, pigmentação do reverso; C. Observação microscópica das colónias após preparação e montagem: organização, cor, forma, tamanho e textura da parede celular dos conídeos, presença de esporos sexuados.

Os testes bioquímicos, aplicados fundamentalmente às leveduras, são trabalhosos e demorados, podendo-se utilizar cerca de 90 testes para identificar corretamente uma levedura. Para fungos patogénicos, o uso de galerias bioquímicas miniaturizadas (API 20C AUX) para as espécies de leveduras mais relevantes em clínica, como *Candida* spp e *Cryptococcus neoformans*, vem facilitar a caracterização bioquímica e a identificação (Figura 9).



Figura 9 – Utilização e fermentação de diferentes substratos e amplificação por PCR de fragmentos de DNA específicos do género ou espécie suspeito.

Os métodos moleculares, por serem mais rápidos e fáceis de executar por qualquer operador proficiente em diagnóstico molecular, são aplicados em laboratórios clínicos, mas sendo dirigidos especificamente a determinadas espécies ou géneros fúngicos mais comuns em medicina humana e animal poderão não detetar o agente fúngico causador da infeção, se este não for dos mais usuais (Figura 9). A colheita das amostras adequadas, após suspeita clínica por sintomatologia ou observação macroscópica da zona infetada no caso das dermatomicoses, é essencial para um diagnóstico correto. Se se suspeitar de micose sistémica ou profunda podem-se colher lavagens bronquiais, expetorações, líquido pleural, cefalorraquidiano ou peritoneal ou tecidos de biópsia. Pode-se observar ao microscópio preparações do próprio tecido, antes da inoculação nos meios de cultura específicos. No caso de dermatofitoses deve-se raspar bem as zonas periféricas e de crescimento mais recente da lesão da pele, ou arrancar os pelos com o folículo (Figura 10).



Figura 10 – Colheita de amostras de pele usando a técnica da escova e inoculação nos meios específicos.

Micoses diagnosticadas em animais no Laboratório de Bacteriologia e Micologia do INIAV

Candida albicans é, de facto, a levedura mais frequentemente identificada como causadora de micoses internas em mamíferos, seguindo-se *Candida famata*. As candidíases são diagnosticadas a partir de amostras de fezes e zaragoas de exsudado respiratório de mamíferos marinhos, ou de lavagens uterinas de equinos.

As aspergiloses mais frequentes são devidas a *Aspergillus fumigatus*, principalmente em aves, quer sejam ou não de aviário mas com maior incidência nestas, tendo efeito devastador nos órgãos respira-

tórios e causando altas mortalidades. No entanto, os seus hospedeiros não se limitam às aves, tendo também sido identificado em exsudado nasal de ocapí, mamífero artiodáctilo.

Criptococose sistémica devida a *Cryptococcus gattii* foi identificada num coala, a partir de líquido cefalorraquidiano, tendo um desfecho fatal.

Animais de sangue frio, como peixes e répteis, são também propensos a micoses, que são restritas a estes hospedeiros e a ambientes aquáticos e solo húmido e, por isso, menos conhecidas e mais difíceis de detetar, mas não menos importantes, pois podem levar à extinção de espécies animais.

É o caso do fungo *Batrachochytrium dendrobatitis* e *B. salamandrivorans* que origina quitridiomicoses letais, levando ao declínio de populações de espécies de anfíbios em todo o mundo. A sua identificação é feita por PCR diretamente em amostras de zangaratoas da pele dos anfíbios. Dado o impacto mundial desta micose na diversidade dos anfíbios, o laboratório de bacteriologia e micologia do INIAV está habilitado a fazer o seu diagnóstico por métodos moleculares.

Em peixes de aquário, como peixe-gato-listrado (*Aracana aurita*), identificou-se micose sistémica no rim e barbatanas devidas a *Exophiala* sp, levedura aquática demaciácia (de cor escura).

Existe, portanto, um nicho de micoses com impacto na diversidade das espécies animais, e que não afetam os animais de sangue quente de produção ou de companhia, que necessita de ser explorado e investigado futuramente. ☹

Bibliografia

- Blooi, M.; Pasmans, F. et al. (2013). Duplex real-time PCR for rapid simultaneous detection of *Batrachochytrium dendrobatitis* and *B. salamandrivorans* in amphibian samples. *J. Clin. Microbiol.*, **51**:4173–4177.
- Botelho, A. (2019). *Fungi as animal Pathogens. Lectures in MSc Course in Veterinary Microbiology. MMVM01 Veterinary Microbiology and Immunology. University of Surrey, Guildford, UK*
- Botelho, A. and Planta, R. (1994). Specific identification of *Candida albicans* by hybridization with oligonucleotides derived from ribosomal DNA internal spacers. *Yeast*, **10**:709–717.
- O'Hanlon et al. (2018). Recent Asian origin of chytrid fungi causing global amphibian declines. *Science*, **360**:621–627.
- Pincus, D.H.; Orega, S. e Chatellier, S. (2007). Yeast identification – past, present and future methods. *Medical Microbiology*, **45**:97–121.