



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

FABIANO BONFIM CARREGARO

**MICROBIOTA FÚNGICA ISOLADA DA PELE DE SUÍNOS
HÍGIDOS PROCEDENTES DE DIVERSOS MUNICÍPIOS DO
ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

**PORTO ALEGRE
2006**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**MICROBIOTA FÚNGICA ISOLADA DA PELE DE SUÍNOS
HÍGIDOS PROCEDENTES DE DIVERSOS MUNICÍPIOS DO
ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

Autor: FABIANO BONFIM CARREGARO

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Sub-área: Microbiologia.

Especialidade: Micologia.

Orientador: PROF. DR. LAERTE FERREIRO

Co-orientador: PROF. DR. DAVID E. S. N. DE BARCELLOS

PORTO ALEGRE
2006

C314m Carregaro, Fabiano Bonfim

Microbiota fúngica isolada da pele de suínos hígidos procedentes de diversos municípios do estado do Rio Grande do Sul./ Fabiano Bonfim Carregaro. – Porto Alegre: UFRGS, 2006.

47 f.; il. – Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, RS-BR, 2006. Laerte Ferreiro, Orient.

1. Suínos: microbiologia: parasitologia 2. Fungos: patogenicidade
3. Micoses: veterinária I. Ferreiro, Laerte, Orient. II. Barcellos, David Emílio Santos Neves de, Co-orient. III. Título.

CDD 616.01

Catálogo na fonte: Biblioteca da Faculdade de Veterinária da UFRGS



FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINARIAS

APROVADO POR:

Prof. Dr. Janio Morais Santurio

Membro da Banca.

Prof^a. Dr^a. Patrícia Valente da Silva

Membro da Banca.

Prof. Dr. David Driemeier

Membro da Banca.

“Tudo parece obstáculo se você não consegue ver além.”

(Autor desconhecido)

Dedico a minha família:

Aos meus pais Antonio Carregaro e Maria Aparecida Bonfim Carregaro.

Aos meus queridos irmãos Adriano Bonfim Carregaro e Juliano Bonfim Carregaro; bem como as novas integrantes Valéria Maria Lara Carregaro, Juliana Coelho Brandão, e para meus dois sobrinhos Victor e Pedro Henrique.

Pelo carinho e incentivo, mesmo que a distância, de todos os dias.

AGRADECIMENTOS:

Aos meus anjos-da-guarda por me iluminarem e iluminarem meu caminho, permitindo-me um crescimento contínuo.

Aos animais pelos ensinamentos diários e por sempre manterem viva a minha vontade de crescer como profissional, permitindo-lhes uma vida mais digna acima de todas as coisas.

Aos professores do Setor de Suínos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, David Emílio dos Santos Neves de Barcellos, Fernando Pandolfo Bortolozzo e Ivo Wentz, primeiramente pelo conhecimento adquirido desde meus primeiros passos durante a graduação na Universidade de Brasília através de livros, congressos e etc. Por despertar a vontade de aprender cada vez mais e a importância da transmissão de conhecimento, e também por fortalecer bases como a ética, humildade e companheirismo.

Aos amigos da UFRGS, principalmente do Setor de Suínos, Setor de Micologia, Setor de Virologia e Setor de Patologia, por permitirem nesses dois anos de minha vida o crescimento através de ensinamentos técnicos e, mas importante, pelo desenvolvimento como indivíduo. Agradecimento especial para Edna Maria Cavallini Sanches minha companheira de “sofrimentos micóticos” e Andréia Spanamberg.

Aos laboratórios de micologia do ICBS da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e URIMIM da Universidade Autônoma da Barcelona, por colaborarem com a realização desse projeto.

A todos das Republicas “Slaughter House” (Felipao, Evandro, Marcelo, Ricardo) e “The Gilts” (Wal, Mellagi, Ana GO, Andréia) e aos adjuntos (Cris, Cris, André e William), que tornaram esses dois anos muitos especiais.

Aos meus amigos que mesmo a distancia me dão apoio diariamente: Luciano Felício Fuck, Henrick Oprea, Saulo Suassuna Santos, André Luiz Rodrigues da Mota, Eduardo Pedrosa Cunha, Leandro Pinheiro Flauzina, Patrícia Coutinho Aguiar, Carmos

Triacca, Patrícia Triacca, Plínio Piva, Cristiane Piva, Rafael Kummer e Aline Kummer, Daniel e Rodrigo.

A todos os professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, por permitiram a conclusão deste trabalho. Em especial as funcionarias da Secretaria de Pós-graduação: Maria Colet Lorini, Jociane Oliveira e Vera Luiza Martins Saraiva da Rocha.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

A todos que algum dia já participaram ou participarão do meu desenvolvimento como pessoa e/ou como profissional.

E, por ultimo, mas não menos especial ao professor Laerte Ferreira pela oportunidade e por acreditar na minha capacidade em desenvolver esse projeto. Por ter participado ativamente da minha orientação durante esses dois anos.

Esta ultima frase dedico a todas as pessoas que conheci aqui no Rio Grande do Sul e que hoje, com certeza, fazem parte da minha grande vida. “Família não precisa ter conta sangüínea, é só preciso ter um pouco mais de sintonia...” – O Rappa.

RESUMO

A suinocultura brasileira encontra-se atualmente em um nível técnico de destaque no contexto mundial. Entretanto, diversas estratégias são utilizadas para restringir a compra dos produtos brasileiros por países estrangeiros, em especial barreiras sanitárias. Os objetivos desse trabalho foram determinar a microbiota fúngica da pele de suínos sem lesões aparentes e estabelecer os possíveis agentes micóticos de importância nesta espécie. Foram obtidas 261 amostras de animais com 20 a 120 dias de idade, provenientes de 11 granjas do Rio Grande do Sul. As amostras foram obtidas apenas dos animais com ausência de qualquer patologia. Essas foram semeadas em Agar Sabouraud com cloranfenicol. Obteve-se o crescimento de 509 culturas, sendo 305 (59,92%) fungos filamentosos e 204 (40,08%) leveduras. A distribuição do número de diferentes colônias isoladas por amostra demonstra uma predominância de monocultura no grupo 1 (animais de 20 a 60 dias de idade) em relação ao grupo 2 (animais acima de 60 dias de idade). Dentre os fungos filamentosos septados, ocorreu predominância dos hialohifomicetos (43,03%) em relação aos feohifomicetos (10,41%), enquanto que observou-se apenas 6,48% de filamentosos asseptados. O *Aspergillus* (22,90%) foi o gênero de hialohifomiceto mais isolado, com predominância do *A. flavus* (5,70%). Dentre os feohifomicetos, o gênero *Cladosporium* foi o mais prevalente (9,04%). No que concerne os zygomycetos, o gênero mais isolado foi *Mucor* (4,13%). Em relação às leveduras, o gênero *Candida* foi o mais isolado (14,73%), sendo a distribuição de frequência das espécies: *C. albicans* (13,56%), *C. parapsilopsis* (0,59%), *C. famata* (0,20%), *C. tropicalis* (0,20%) e outras espécies de *Candida* (0,20%). A reduzida quantidade de diferentes fungos isolados por amostra nos animais do grupo 1, em relação ao grupo 2, pode ter sido influenciada pela menor quantidade de grãos utilizada na fabricação de ração nos animais mais novos, maior frequência de limpeza e desinfecção das instalações, bem como a não mistura de animais provenientes de diferentes origens. A alta prevalência do gênero *Candida* observada em suínos, um gênero normalmente comensal do trato gastrointestinal, se torna importante quando esses animais são acometidos por doenças imunossupressoras. Estudos clínicos longitudinais e/ou infecções experimentais talvez possam definir a importância destes agentes em suínos.

Palavras chaves: suínos, flora fúngica, leveduras, fungos filamentosos, *Candida* spp.

ABSTRACT

Brazilian pig production has reached a technical and technological level that stands out in international pig production. However, several strategies have been used to limit access of Brazilian pig products to international market, including health barriers. The objective of our work was to determine the fungal flora of the healthy pig skin and to determine possible micotic agents important for this animal species. 261 samples from 20-120 day old piglets were obtained from 11 pig farms from the State of Rio Grande do Sul, Brazil. All sampled animals were negative for any skin lesions. The samples were cultured in Sabouraud agar and cloranfenicol. Cultures were obtained from 509 materials, with 305 (59,95%) filamentous fungi and 204 (40,08%) yeasts. The distribution of different fungi isolated each simple shows a high prevalence on group 1 (20-60 days old) in relation to group 2 (more than 60 days old). Among septated filamentous fungi, there was a great preponderance of hialohifomycetes (43,03%) in relation to feohifomycetes (10,41%), while only 6,48% were aseptated filamentous. *Aspergillus* (22,90%) was the most isolated genus of hialohifomycetes and *A. flavus* (5,70%) was the more prevalent specie isolated. As to zygomycetes, the most isolated genus was *Mucor* (4,13%). Regarding yeasts, the genus *Candida* was the most prevalent (14,73%) and the species distribution was: *C. albicans* (13,56%), *C. parapsilopsis* (0,59%), *C. famata* (0,20%), *C. tropicalis* (0,20%) and other *Candida* species (0,20%). The little quantity isolated per sample could have been influenced by quantity of grains used in pig feed in these different stages of production, types of facilities, stress and environmental changes could be important to imbalance the flora, as well as favoring diffusion of mycosis in the herds. The limited number of different fungi isolated from animal flora on group 1 may have been influenced by the smaller use of grains in the feed mill in this stage, a better cleaning and disinfection of premises, as well as avoiding mixing pigs of different source. Clinical longitudinal studies and/ or experimental infections perhaps may help to define the importance of these fungi to that species.

Key words: swine, fungi flora, yeasts, filamentous fungi, *Candida* spp.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1.** Freqüência de gêneros isolados da pele de suínos hígidos com 20-60 dias de idade (n=94) e mais de 60 dias de idade (n=167) procedentes de diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006..... 23
- FIGURA 2.** Freqüência da microbiota isolada da pele de suínos hígidos (n=261) procedentes de diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006 24
- FIGURA 3.** Freqüência dos zigomicetos isolados da pele de suínos hígidos com 20-60 dias de idade (n=94) e com mais de 60 dias de vida (n=167) procedentes de diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006 25
- FIGURA 4.** Freqüência dos hialohifomicetos isolados da pele de suínos hígidos com 20-60 dias de idade (n=94) e com mais de 60 dias de vida (n=167) criados em diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006..... 26
- FIGURA 5.** Freqüência de feohifomicetos isolados da pele de suínos hígidos com 20-60 dias de idade (n=94) e com mais de 60 dias de vida (n=167) procedentes de diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006 27
- FIGURA 6.** Freqüência de leveduras isoladas da pele de suínos hígidos com 20-60 dias de idade (n=94) e com mais de 60 dias de vida (n=167) procedentes de diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006 27

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Microbiota Ambiental e Animal	15
2.2 Importância das Doenças Imunossupressoras	16
2.3 Dermatofitoses e outras Infecções em Suínos	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Animais	19
3.2 Obtenção das amostras	19
3.3 Microbiota fúngica.....	19
3.3.1 Isolamento fúngico	19
3.3.2 Identificação dos fungos filamentosos	20
3.3.3 Identificação de leveduras e fungos semelhantes a leveduras	20
3.3.3.1 Técnica de Formação do Tubo Germinativo	21
3.3.3.2 Técnica do Microcultivo	21
3.3.3.3 Características Morfológicas Coloniais	21
3.3.3.4 Teste de Fermentação	21
3.3.3.5 Teste de Crescimento em diferentes temperaturas	22
3.3.3.6 Teste de assimilação de fontes de carbono.....	22
3.4 Análise estatística	23
4. RESULTADOS	24
5. DISCUSSÃO.....	30
6. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS.....	35
ANEXOS	42

1 INTRODUÇÃO

A suinocultura brasileira encontra-se atualmente em um nível técnico de destaque no contexto mundial. Descobertas na área da reprodução, sanidade, manejo e genética suína foram cruciais para que o país assumisse tal importância. O Brasil produz o quilo de carne suína mais barato do mundo (KNUDSON, 2006), porém ainda possui alguma dificuldade em abrir e manter novos mercados (internos e externos) de consumo. Barreiras comerciais, em especial barreiras sanitárias, são estratégias cada vez mais utilizadas para restringir a compra dos produtos brasileiros por países estrangeiros. Neste contexto, os agentes micológicos se tornam cada vez mais importantes pelo fato de apresentarem um potencial risco tanto para a conservação de alimentos destinados a humanos e animais, quanto na disseminação de doenças intra e inter-espécies (BLÁHA *et al.*, 1990; FILTENBORG *et al.*, 1996).

A produção de suínos vem sofrendo profundas transformações nas últimas décadas, mudando de sistemas extensivos de produção para as mais diversas formas intensivas de criação. No Brasil, a suinocultura tecnificada vem adaptando seu tipo: de granjas de ciclo completo familiares para sofisticados sistemas de integração, em que grandes empresas produzem os animais em sistemas verticalizados (NICOLAIEWSKY *et al.*, 1998; ARDEN *et al.*, 2002). Com isso, a preocupação na manutenção de sistemas com um mínimo de doenças se tornou prioridade.

Uma grande evolução neste sentido foi a introdução da técnica de manejo em que todos os animais são alojados e desalojados de uma só vez, o sistema chamado todos dentro - todos fora (GRUNERT, 1980). A partir disso, outros modelos para a redução dos contaminantes na produção de suínos foram desenvolvidos e adotados em todo o mundo, preferencialmente os sistemas segregados de produção, sendo muito utilizados na erradicação de várias doenças da suinocultura moderna, pois

permitem obter maior controle das enfermidades endêmicas nessa espécie (GLAUBER, 1999).

Os suínos, por serem mantidos em constante contato com seus excrementos, além de criados em instalações que não permitem a total limpeza enquanto os animais estão alojados, acabam por agregar e disseminar agentes patogênicos durante o processo de produção. Trabalhos desenvolvidos para avaliar a contaminação ambiental e de grãos utilizados na alimentação dessa espécie demonstram a presença de uma diversidade de agentes bacterianos e micóticos durante o processo de produção, mesmo em períodos onde as instalações encontram-se em vazio sanitário (MARTIN *et al.*, 1996; TANAKA *et al.*, 2001).

Na suinocultura, a micologia é explorada visando à segurança alimentar e o entendimento de diversas patologias, assim como o estabelecimento de novas oportunidades de ganho produtivo em toda a cadeia. Várias doenças micóticas são ainda desconhecidas ou, em grande parte, não precisamente diagnosticadas na suinocultura brasileira, fazendo com que os agentes micóticos sejam subvalorizados. Relatos demonstrando a importância dos agentes micóticos na suinocultura são escassos. Entretanto, em várias espécies, como equínos, cães, gatos, dentre outras, a observação de agentes micóticos desenvolvendo tanto patologias superficiais quanto profundas não se faz tão rara.

Trabalho importante na tentativa de elucidar o possível agente envolvido na Dermatite Pustular Psoriforme em suínos foi desenvolvido por Purchio *et al.* (1980). Os autores observaram a possível participação do fungo *Scopulariopsis brevicaulis* em leitões com quadro clínico característico da doença, porém não foi possível a reprodução dos sinais clínicos em animais testados. Nos últimos anos, com o surgimento de doenças imunossupressoras nos planteis brasileiros, como é o caso da síndrome multissistêmica do definhamento do suíno (SMDS), os fungos se tornam cada vez mais importantes para a manutenção do nível sanitário e a rentabilidade nos rebanhos (SANCHES *et al.*, 2004; ZLOTOWSKI *et al.*, 2006).

Pesquisas vêm sendo desenvolvidas no sentido de observar a microbiota normal de diversas espécies animais (AHO, 1983; PIRES *et al.*, 1986; ISHIKAWA *et al.*, 1996). Isto se faz necessário para que seja possível um melhor controle dos potenciais riscos de infecção, principalmente, ligados a espécies confinadas, onde o

desequilíbrio da microbiota ambiental pode ser decisivo nas interações entre o ambiente e os animais, acarretando a estes o desenvolvimento de patologias.

Os objetivos deste trabalho foram determinar a microbiota fúngica da pele de suínos sem lesões aparentes e estabelecer os possíveis agentes micóticos de importância nesta espécie.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Microbiota Ambiental e Animal:

Os agentes micóticos estão presentes na microbiota de suínos e são comumente encontrados na pele, cavidade oral e intestino. Esses são provenientes do ambiente através da contaminação do alimento, dos animais de reposição, disseminação aérea, dentre outros.

A observação dos ambientes de criação é amplamente discutida em vários trabalhos na literatura, demonstrando a presença de patógenos até mesmo após o processo de limpeza dos ambientes. Contudo, a contaminação pela dispersão aérea, principalmente em si tratando dos agentes oportunistas, como o gênero *Mucor*, é uma importante via de manutenção da contaminação das instalações de suínos em nosso meio de produção (MARTIN *et al.*, 1996; TANAKA *et al.*, 2001).

Outros agentes oportunistas são também disseminados através das condições de criação dos suínos. Os animais, por serem mantidos em constante contato com seus excrementos, disseminam fungos importantes para a cadeia de produção como a *Candida* e *Geotrichum*, esses habitantes normais do trato respiratório e gastrointestinal dos animais (BURNETT e SCHUSTER, 1982; SIDRIM e ROCHA, 2004).

A produção de suínos vem sofrendo profundas transformações nas últimas décadas. No Brasil, a suinocultura tecnificada vem adaptando seu tipo: de granjas de ciclo completo familiares para sofisticados sistemas de integração, em que grandes

empresas produzem os animais em sistemas verticalizados (NICOLAIEWSKY *et al.*, 1998; ARDEN *et al.*, 2002). Com isso, a preocupação na manutenção de sistemas com um mínimo de doenças se tornou prioridade.

2.2 Importância das Doenças Imunossupressoras:

Após o aparecimento das doenças virais imunossupressoras nos plantéis suínos de todo o mundo, como a Síndrome Respiratória Reprodutiva Suína, Síndrome da Dermatite e Nefropatia Suína e a Síndrome Multissistêmica do Definhamento dos Suínos, as duas últimas presentes no Brasil, doenças micóticas se tornaram freqüentes, participando com maior expressão nas perdas econômicas do setor.

Os animais imunodebilitados, sejam por deficiências de manejo ou pela presença destas ou outras doenças nos plantéis, são as principais fontes de infecção e disseminação dos agentes micóticos nos rebanhos. Atualmente o número de casos de patologias desenvolvidas por fungos oportunistas é amplamente descritos na literatura, esses acometendo vários diferentes sistemas como: respiratório, gastrointestinal, bem com a derme dos animais (GONZALES e TAYLOR, 1998; SEGALÉS *et al.*, 2003; CORRÊA *et al.*, 2006).

Nesse novo cenário, fungos passaram a expressar suas potencialidades patogênicas, pois com a imunidade comprometida, os animais não foram capazes de se proteger mesmo em níveis baixos de infecção. CAVALINI SANCHES *et al.* (2006) registraram a ocorrência de *Pneumocystis* spp. em animais abatidos no Rio Grande do Sul e Mato Grosso. Esse patógeno está associado a problemas respiratórios de humanos e suínos e, para o último, pode ser um sério problema, já que reduz o ganho de peso e o lucro da cadeia de produção. ZLOTOWSKI *et al.* (2006) relataram casos de candidose por *Candida albicans* em leitões

imunossuprimidos, provenientes de rebanhos acometidos pela Síndrome Multissistêmica de Definhamento dos Suínos.

Fungos oportunistas estão sendo cada vez mais isolados em problemas clínicos de animais de produção. Zigomicetos, *Aspergillus*, *Candida*, são agentes que se tornaram importantes após o surgimento de doenças imunossupressoras, fazendo com que a cadeia de produção seja afetada diretamente. Várias patologias incomuns na suinocultura, desde micoses superficiais às profundas, são diagnosticadas atualmente (CORRÊA e CORRÊA, 1992; GONZALES e TAYLOR, 1998; SEGALÉS *et al.*, 2003), despertando a atenção à micologia.

2.3 Dermatofitoses e outras Infecções em Suínos:

Existe uma série de infecções cutâneas, bacterianas e micóticas, em suínos que podem ser confundidas. As dermatofitoses cutâneas causadas por *Trichophyton mentagrophytes* (LUND, 1996), por *Microsporum nanum* (CAMPOS e OLIVEIRA, 1988), dermatomicose associada à infecção por *Staphylococcus hyicus* (SCHEIBER, 1995), epidermite exsudativa (SOBESTIANSKY *et al.*, 1989; BARCELLOS *et al.*, 1992) e a dermatite pustular por *Staphylococcus* sp. (BARCELLOS e SOBESTIANSKY, 2003) são algumas das de difícil diagnóstico visual.

Tanto os agentes oportunistas como infecções desenvolvidas por fungos antropofílicos como *Microsporum nanum* ou *Trichophyton mentagrophytes* podem infectar pessoas a partir de suínos (ROLLER e WESTBLOM, 1986; THAKUR e VERMA, 1984). No Brasil, casos de zoonoses já foram identificados através de lesões causadas por *Microsporum nanum* (CAMARGO *et al.*, 1992), sendo esse o agente dermatófito de maior importância na produção de suínos.

Em um estudo retrospectivo sobre as onicomicoses na Itália, Romano *et al.* (2005) demonstrou a importância de vários agentes micóticos nas infecções humanas diagnosticadas de 1985 a 2000. Portanto, não só os agentes comumente infectantes, mas também os oportunistas são importantes para a manutenção da saúde de animais e trabalhadores envolvidos na produção de suínos.

Outras doenças em suínos como a Dermatite Pustular Psoriforme, anteriormente conhecida como Pitiríase Rósea em suínos, foi primeiramente descrita em leitões jovens, com duas a dez semanas de idade, principalmente os que estivessem cursando ou que acabassem de passar por períodos convalescentes de distúrbios digestivos, como inapetência, vômitos e diarreia (CONCORAN, 1964; PORTUGAL *et al.*, 1982; CAMERON, 1999). Entretanto, recentemente, a doença similar foi descrita em animais mais velhos, como fêmeas em lactação, porém sem um total esclarecimento do agente patogênico envolvido (PITTMAN e ROBERTS, 2005). Porém não há relatos consistentes tanto de algum agente envolvido na patologia em animais quanto algum possível caráter zoonótico.

O primeiro relato indicando um possível agente envolvido na Dermatite Pustular Psoriforme foi de PURCHIO *et al.* (1980). Os autores observaram a possível participação do *Scopulariopsis brevicaulis* em leitões com quadro clínico característico da doença, porém não foi possível a reprodução dos sinais clínicos em animais testados. Contudo esse mesmo fungo já foi descrito como causador de dermatomicoses envolvendo várias espécies animais como eqüinos, cães, cobaios (*Cavia porcellus*) e camundongos (GAMBALE *et al.*, 1987; PAULA *et al.*, 1987a; PIRES *et al.*, 1989; COUTINHO *et al.*, 2001).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram obtidas 261 amostras (esfregaço) de pele de suínos, com 20 a 120 dias de idade procedentes de 11 granjas localizadas nos municípios de Três Passos, Lajeado, Marau, Ibirubá, Tapera e Caxias do Sul, no estado do Rio Grande do Sul, no período de abril de 2005 a abril de 2006. A amostragem foi dividida em dois grupos de acordo com a idade: 1) 167 (63,74%) amostras provenientes de leitões de 20-60 dias de idade; e 2) 94 (36,26 %) de leitões acima de 60 dias de idade. Os animais foram previamente avaliados, sendo obtidas apenas amostras dos animais com ausência de problemas patológicos.

3.2 Obtenção das amostras

O material foi obtido através da fricção de escovas de cabelo (circulares e estéreis) na região ventral posterior dos animais, de uma área não superior a 10 cm. As escovas eram esterilizadas através de incidência de luz ultravioleta. Um controle negativo de incubação era realizado após cada esterilização para garantir a ausência de agentes contaminantes entre coletas. A obtenção das amostras foi realizada após limpeza da pele com água e etanol 70%. Após a coleta, as escovas eram envolvidas em papel alumínio, o mesmo utilizado no processo de esterilização, sendo transportada sem refrigeração ao Laboratório de Micologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. O material era semeado em um período não superior a um dia.

3.3 Microbiota fúngica

3.3.1 Isolamento fúngico

As amostras foram semeadas em Agar Sabouraud com cloranfenicol. Após um período máximo de incubação de quatro semanas em temperatura de 25 a 30°C, foram selecionadas as diferentes colônias de fungos filamentosos e leveduras. Quando não havia crescimento fúngico neste período, a amostra era considerada “sem crescimento”. A composição e o modo de preparo de todos os meios de cultivo foram realizados conforme a metodologia clássica descrita na literatura (PAIXÃO e SIDRIM, 1999).

3.3.2 Identificação dos Fungos Filamentosos

Foi realizada a micromorfologia através da coloração pelo Lactofenol-azul-algodão entre lâmina e lamínula. As repicagens foram realizadas em Agar Sabouraud para análises posteriores. Quando não foi possível a identificação do fungo, pela ausência de estruturas características, este foi cultivado em Agar Batata para estimular o desenvolvimento de estruturas de reprodução (COLIN *et al.*, 1996; GUY e RICHARD, 1996; MARTHA e KETHLEEN, 1999; NEUFELD, 1999).

3.3.3 Identificação de Leveduras e fungos semelhantes a Leveduras

Inicialmente foi realizada uma triagem para a identificação da espécie *Candida albicans* através das técnicas de indução à formação de tubo germinativo (em soro suíno) e clamidosporos (microcultivo). Os isolados que apresentaram resultado negativo foram identificados através de testes fenotípicos e fisiológicos (YARROW, 1998; BARNETT *et al.* 2000), que comparam as características fisiológicas das leveduras isoladas com as espécies conhecidas. Os fungos semelhantes a leveduras produtores de artroconídeos foram classificados nos gêneros *Geotrichum* ou *Trichosporon*. Espécies não produtoras de urease e Diazonium Blue B negativo pertencem ao gênero *Geotrichum*, enquanto que as produtoras de artroconídeos e Diazonium Blue B positivo pertencem ao gênero *Trichosporon* (BARNETT *et al.*, 2000). Em alguns casos, características fisiológicas também foram avaliadas, tais como crescimento em diferentes temperaturas e testes de assimilação de fontes de carbono e nitrogênio específicas. Estes testes foram analisados de acordo com os métodos empregados para identificação convencional de leveduras (YARROW, 1998).

3.3.3.1 Técnica de Formação de Tubo Germinativo

Uma alíquota foi retirada da amostra, submetida a crescimento prévio de 24 a 48 horas, com o auxílio de uma alça platinada esterilizada. Essa alíquota foi inoculada em tubo contendo 0,5 ml de soro estéril suíno, sendo posteriormente incubada a 37°C durante um período de 2 a 3 horas. Todas as amostras foram analisadas dentro do período máximo de 3 horas de incubação no Laboratório de Micologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

3.3.3.2 Técnica do Microcultivo

O desenvolvimento de clamidosporos tem sido utilizado em micologia médica como procedimento diagnóstico especialmente de *Candida albicans*. A técnica escolhida foi a de microcultivo utilizando o meio agar Fubá. A cultura suspeita foi inoculada através de estrias na superfície do meio e após coberta com uma lamínula. Os clamidosporos estão usualmente presentes em 24-48 horas com incubação a 30°C. Após o período de incubação, visualização foi feita através da montagem da lamínula colocada sobre as estrias diretamente em microscopia óptica, onde se procurou observar a formação de micélio, pseudomicélio, clamidosporos terminais, células de leveduras e blastosporos em diversas disposições (NEUFELD, 1999).

3.3.3.3 Características Morfológicas Coloniais

Foram observadas as características coloniais como cor (branca, creme, rosa, vermelha), brilho (brilhante, opaca), forma (circular, oval ou fusiforme), margem (regular, irregular, lobada ou com raízes), superfície (lise ou rugosa), elevação (plana, convexa, umbonada ou vulcão), consistência (cremosa, mucóide, butirosa, membranosa, esfarelada, dura, seca), segundo YARROW (1998).

3.3.3.4 Teste de Fermentação

Verificou-se a capacidade de cada levedura e fungo semelhante a levedura em fermentar glicose. Antes da realização do teste, as culturas foram repicadas em agar Sabouraud para a obtenção de células metabolicamente ativas e incubadas por 48 horas

a 25⁰C-30⁰C. As culturas foram posteriormente inoculadas em tubos de ensaio com o meio para fermentação de glicose contendo tubos de Durham invertidos em seu interior. A leitura dos resultados foi feita regularmente em 1, 2, 3, 4, 7, 10, 14 e 21 dias após a incubação. A produção de gás foi confirmada pelo seu acúmulo nos tubos de Durham. A leitura foi considerada negativa quando não houve acúmulo de gás ou quando apenas algumas bolhas foram observadas no tubo de Durham, +1 quando apenas 1/3 do tubo estiver ocupado por gás, +2 quando o gás estiver presente em 2/3 do tubo e +3 quando o tubo de Durham encontrou-se cheio de gás. As cepas que apresentaram resultados +2 ou +3 foram consideradas fermentadoras. As que tiveram leitura +1 foram consideradas fermentadoras fracas (NEUFELD, 1999; BARNETT *et al.*, 2000).

3.3.3.5 Teste de Crescimento em Diferentes Temperaturas

Devido a capacidade das leveduras de crescerem numa ampla faixa de variação térmica (0⁰C a 47⁰C), o teste de temperatura de crescimento contribui para a identificação de algumas leveduras. Portanto, este teste avalia a capacidade de crescimento das leveduras e fungos semelhantes a leveduras nas temperaturas de 37⁰C, 40⁰C e 42⁰C, sendo a temperatura ótima de crescimento para a maioria das espécies de 20⁰C a 30⁰C. As espécies patogênicas crescem favoravelmente entre 30⁰C e 37⁰C, sendo o crescimento a 37⁰C bem característico. O teste de crescimento foi em diferentes temperaturas foi realizado com a utilização do meio caldo Sabouraud. Após a inoculação, os tubos foram incubados em banho-maria nas respectivas temperaturas testadas por três dias, sendo a leitura realizada diariamente através do grau de turvação, de acordo com a escala de Wickerham (YARROW, 1998; BARNETT *et al.*, 2000).

3.3.3.6 Teste de assimilação de fontes de Carbono

Este teste foi baseado na capacidade de assimilação das leveduras nas respectivas fontes de carbono: glicose, galactose, maltose, celobiose, trealose, lactose, melibiose, rafinose, l-arabnose, ramnose, glicerol, glucitol, inositol e N-acetil-glucosamina. A habilidade ou não de assimilar diferentes açúcares permite a separação das espécies de acordo com seu padrão de assimilação. Tradicionalmente três principais métodos são utilizados: o método de Wickerham em tubos com meios líquidos, auxanograma em placas com agar base nitrogenado e o inóculo e, por fim, o método de réplica em placas (BARNETT *et al.*, 2000).

As cepas foram inoculadas, a partir de culturas recentes em Agar Sabouraud, em tubos de ensaio contendo 2 mL de água destilada estéril, por no máximo dois dias para que esgotassem suas fontes energéticas. A densidade do inóculo nos tubos com água estéril foi medida pelo cartão de Wickerham (grau 0,5). Após esse período, uma alíquota de 8µL de cada levedura foi inoculada na placa de petri contendo a fonte de carbono específica de acordo com o método de réplica em placas. A proporção química de cada meio foi de 0,67% de YNB, 0,5% da respectiva fonte de carbono, com exceção da rafinose cuja proporção foi de 1% e 2% de agar difco (YARROW, 1998; BARNETT *et al.*, 2000). Como controle positivo foi utilizado uma placa com meio YNB acrescido de glicose e agar, e como controle negativo uma placa com meio YNB acrescido somente de agar. A leitura dos resultados foi realizada uma vez por semana durante três semanas consecutivas, comparando o crescimento da levedura na placa de controle positivo e de controle negativo com o crescimento na fonte de carbono analisada.

3.4 Análise Estatística

Os dados de frequência das amostras entre as diferentes idades (20-60 dias e a acima de 60 dias) foram analisados pelo teste de Qui-quadrado. Foi considerado significativo $p < 0.05$.

4 RESULTADOS

Das 261 amostras de esfregaço de pele em suínos de 20 a 120 dias de idade obteve-se o crescimento de 509 culturas, sendo 305 (59,92%) fungos filamentosos e 204 (40,08%) leveduras. Houve isolamento de 15 diferentes gêneros, sendo 11 filamentosos e quatro leveduras, além dos classificados como micélio estéril.

Os resultados dos cultivos variaram desde a negatividade até a presença de sete diferentes agentes isolados na mesma amostra, e cujas ocorrências foram assim quantificadas: zero (7,66%), um (39,08%), dois (24,14%), três (13,13%), quatro (11,49%), cinco (3,83%), seis (0,38%) e sete (0,38%). Na Figura 1 é observada a variação da frequência da diversidade fúngica nos dois grupos analisados.

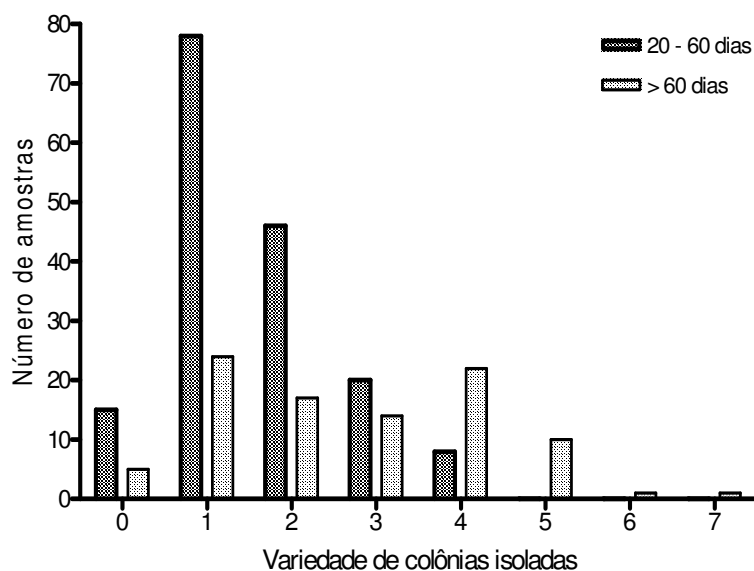


Figura 1 – Frequência da variedade de gêneros isolados da pele de suínos hígidos com 20-60 dias (n=94) e com mais de 60 dias de vida (n=167) de diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006.

A frequência da microbiota isolada da pele de suínos hígidos (n=261) está apresentada na Figura 2. De uma maneira geral, entre os fungos filamentosos septados, ocorreu grande predominância dos hialohifomicetos (43,03%) em relação aos feohifomicetos (10,41%), enquanto que se observou apenas 6,48% de filamentosos asseptados (zigomicetos).

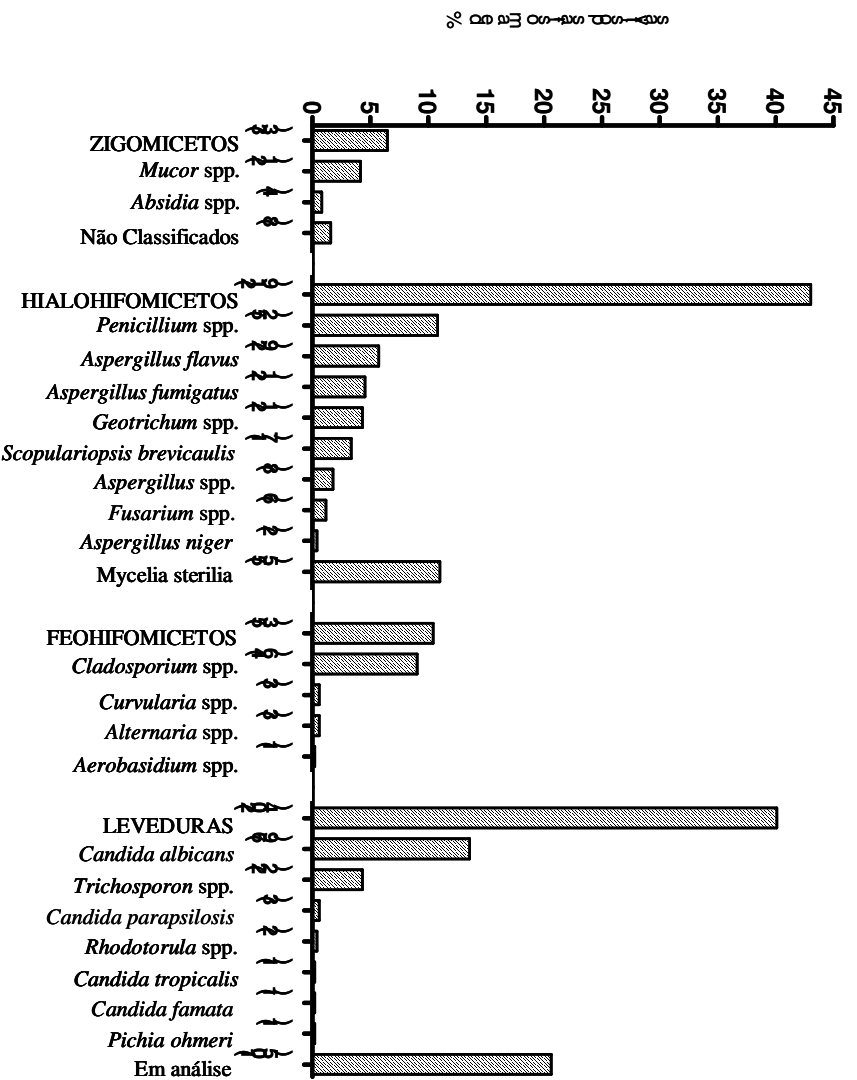


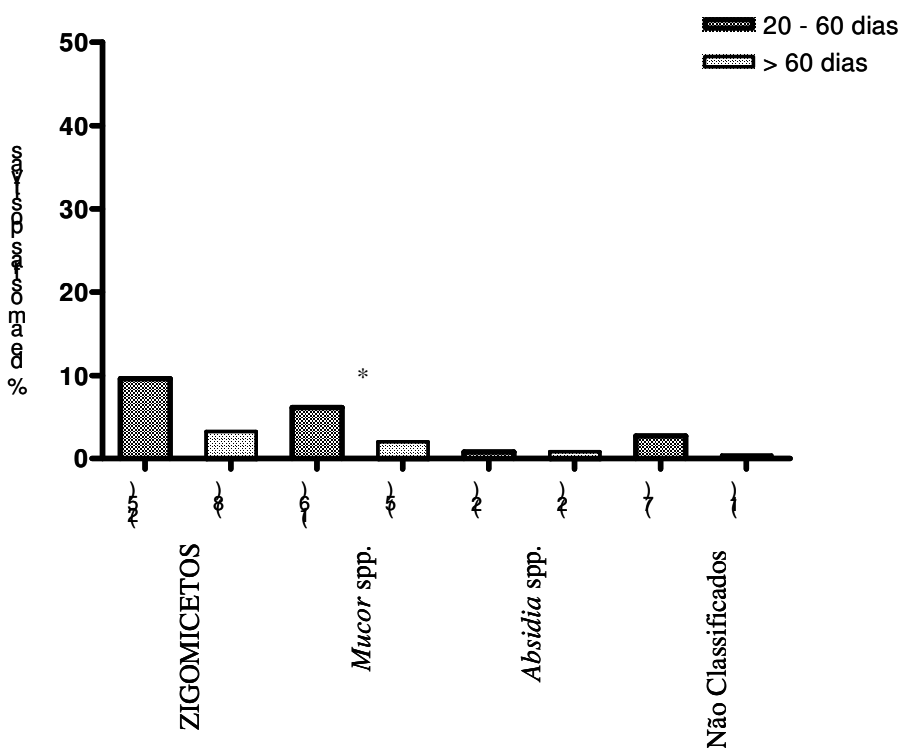
Figura 2. Frequência da microbiota isolada da pele de suínos hígidos (n=261) de diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006.

Aspergillus (22,9%) foi o gênero de hialohifomiceto mais isolado, sendo a espécie predominante o *A. flavus* (5,70%). O segundo gênero mais isolado foi *Geotrichum* spp. (4,32%). Entre os feohifomicetos, o gênero *Cladosporium* foi o mais prevalente (9,04%). No que concerne aos zigomicetos, o gênero mais isolado foi *Mucor* (4,13%).

Dentre as leveduras, o gênero *Candida* (14,73%) foi o predominante: *C. albicans* (13,56%), *C. parapsilopsis* (0,59%), *C. famata* (0,20%) e *C. tropicalis* (0,20%).

As figuras 3, 4, 5 e 6 demonstram a freqüência dos agentes em cada um dos grupos analisados. Os fungos foram divididos nas seguintes classes: Zigomicetos, Hialohifomicetos, Feohifomicetos e Leveduras.

Figura 3. Freqüência dos zigomicetos isolados da pele de suínos hígidos com 20-60 dias (n=94) e com mais de 60 dias de vida (n=167) procedentes de diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006. *



Diferença significativa entre grupos através de teste qui-quadrado ($P < 0,05$).

O gênero *Mucor* foi o zigomiceto mais isolado, tanto no grupo de animais entre 20-60 dias de idade, quanto no grupo acima de 60 dias. Houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$).

Na Figura 4 é demonstrada a distribuição de frequência dos hialohifomicetos nos grupos de suínos hígidos.

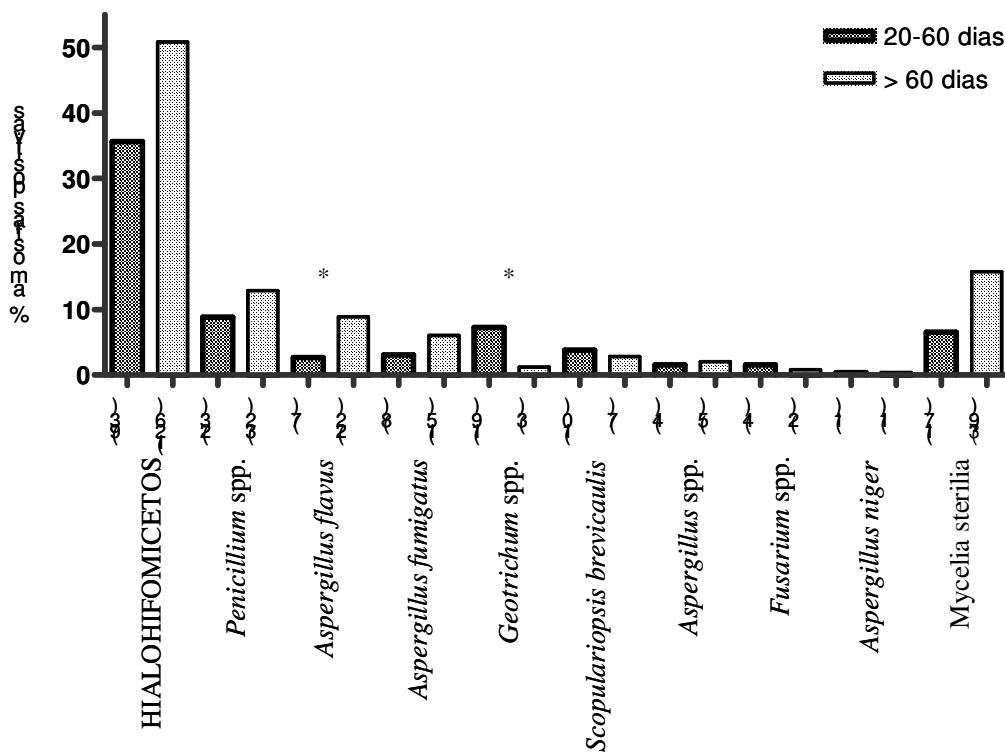


Figura 4. Frequência dos hialohifomicetos isolados da pele de suínos hígidos com 20-60 dias (n=94) e com mais de 60 dias de vida (n=167) procedentes de diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006. * Diferença significativa entre grupos através de teste qui-quadrado ($P < 0,05$).

Aspergillus flavus e *Geotrichum* spp. apresentaram diferença estatística entre o isolamento nos dois grupos analisados.

A espécie *Scopulariopsis brevicaulis* foi isolada em dez amostras no grupo dos animais entre 20-60 e sete amostras nos animais acima de 60 dias de idade. O grupo 1 possuiu 50% dos casos observados em monocultura, o que ocorreu em apenas 14,29% no grupo dos animais acima de 60 dias de vida.

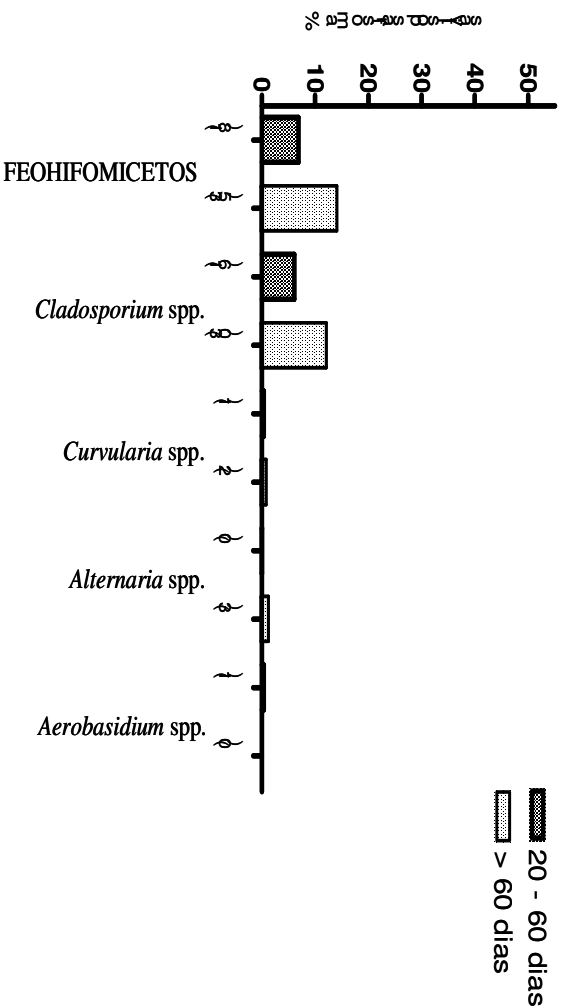


Figura 5. Freqüência de feohifomicetos isolados da pele de suínos hígidos com 20-60 dias (n=94) e com mais de 60 dias de vida (n= 167) criados em diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006.

Dentre os feohifomicetos (figura 5) foi observada uma grande predominância do gênero *Cladosporium*.

Na Figura 6 é demonstrada a distribuição da freqüência das leveduras nos dois grupos analisados.

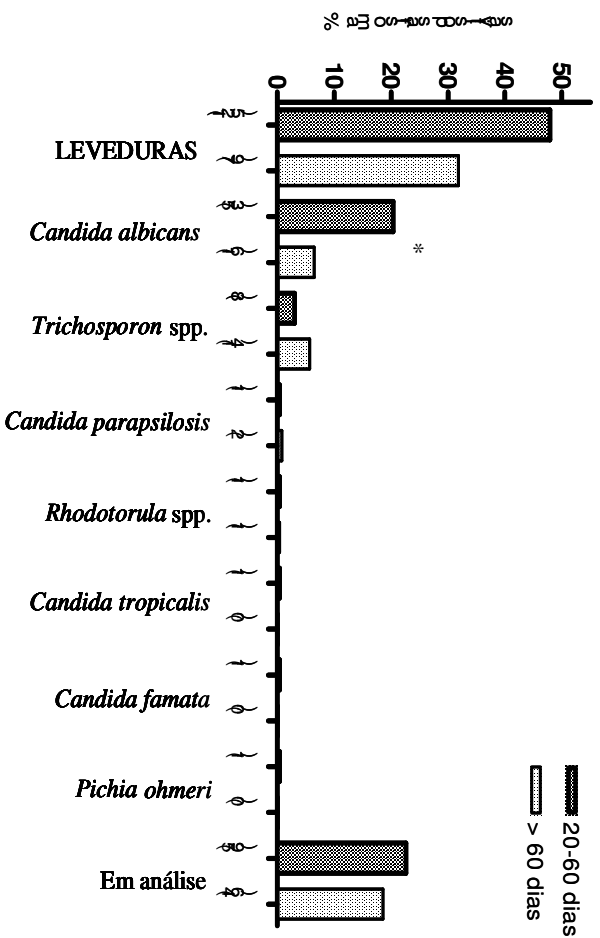


Figura 6. Freqüência de leveduras isoladas da pele de suínos hígidos com 20-60 dias (n=94) e com mais de 60 dias de vida (n= 167) criados em diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006. * Diferença significativa entre grupos através de teste qui-quadrado ($P < 0,05$).

A espécie *Candida albicans* foi a mais observada em ambos os grupos, sendo seu isolamento, em leitões de 20-60 dias de idade, realizado em 53 casos (20,31%) e nas amostras de leitões acima de 60 dias em 16 casos (6,45%). Também foram isolados outros três diferentes gêneros (*Trichosporon*, *Rhodotorula* e *Pichia*).

Nos animais de 20-60 dias de idade, *C. albicans* foi mais freqüente (20,31%), enquanto que no grupo com mais de 60 dias de idade, o gênero *Aspergillus* (17,34%) foi o mais isolado, sendo *A. flavus* (8,87%) a espécie mais prevalente.

5 DISCUSSÃO

Os fungos filamentosos e as leveduras estão amplamente distribuídos no mundo, seja no ambiente terrestre, aquático ou mesmo aéreo. Em geral, quando ocorre falha em algum segmento da produção, por exemplo, elevado índice populacional, cria-se a oportunidade para o surgimento de doenças. Também contribuem isto, variações bruscas da temperatura e o aumento do teor de umidade ambiental. Essas situações, quando associadas à presença de agentes imunossupressores, contribuem para a diminuição da resistência dos animais predispondo-os à ação de diversos microrganismos (PIRES *et al.*, 1989).

Vários trabalhos já foram publicados identificando a microbiota fúngica, tanto em instalações, quanto na alimentação de suínos (DONHAM *et al.*, 1986; MARTIN *et al.*, 1996; DILKIN *et al.*, 2000; TANAKA *et al.*, 2001; RODRIGUEZ-AMAYA e SABINO, 2002). Na microbiota das instalações de suínos foram identificados agentes como *Absidia* spp., *Alternaria* spp., *Aspergillus flavus*, *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp. e *Scopulariopsis* spp. (DONHAM *et al.*, 1986; MARTIN *et al.*, 1996), demonstrando a diversidade dos ambientes avaliados. Essa diversidade corrobora os resultados obtidos neste trabalho, em que vários gêneros fúngicos foram isolados da pele de suínos.

Diversos agentes filamentosos, observados nos trabalhos anteriores citados, também foram identificados no presente estudo. Contudo, os gêneros *Alternaria* e *Curvularia* não foram descritos por DONHAM *et al.* (1986) em instalações de suínos. MARTIN *et al.* (1996) não isolaram zigomicetos e *Curvularia* spp., enquanto que estes estavam presentes na pele de suínos criados em granjas no Rio Grande do Sul.

O gênero *Mucor* é um fungo onipresente, termotolerante, sendo raramente relacionado às patologias, seja em animais ou humanos. Por isso, a zigomicose é uma doença de caráter oportunista em que o grau de resistência do hospedeiro, a quantidade de inóculo e os fatores de virulências do microrganismo, são importantes características para o desenvolvimento do quadro clínico. Essa patologia foi descrita em suínos, equinos, bovinos, ovinos e cães (SIDRIM e ROCHA, 2004).

O maior número de isolamentos do gênero *Mucor* na pele dos animais entre 20-60 dias de idade pode ter sido favorecido por condições como: administração

prolongada de medicamentos, alta infecção das instalações pela ausência ou ineficaz limpeza e desinfecção, veiculação através de alimentos ou reprodutores. Esses fatores poderiam tornar o ambiente mais propenso à contaminação, sobrevivência e disseminação do gênero pela menor competição com outros fungos ou bactérias menos resistentes.

Nas pesquisas envolvendo produtos de alimentação dos suínos, principalmente o milho, os agentes mais isolados foram *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium* spp. (DILKIN *et al.*, 2000; RODRÍGUES-AMAYA e SABINO, 2002) e *Alternaria alternata*, *Aspergillus* spp., *Cladosporium herbarum*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium* spp. e *Rhizopus* spp. (TANAKA *et al.*, 2001). Exceto *Alternaria* spp. e *Fusarium* spp., os outros gêneros foram isolados da pele de um grande número de suínos no atual trabalho. A contaminação de grãos utilizados nas rações de suínos pode ser uma importante via de colonização fúngica na pele dos animais.

O *Aspergillus* é um gênero com ampla distribuição geográfica, sendo conhecida mais de 300 espécies. A espécie *A. flavus*, em áreas de clima tropical, é uma das de grande importância e frequentemente isolada (SIDRIM e ROCHA, 2004). Cerca de 70% da produção de grãos do Brasil são provenientes de regiões com essa característica climática (Ministério da Agricultura). A contaminação desses grãos pode ser a principal via de contaminação da pele dos animais, haja vista que a utilização de grãos na alimentação de suínos é crescente durante o período de produção. Sendo assim, a diferença estatística dessa espécie fúngica entre os grupos pode ter sido principalmente influenciada pela maior probabilidade de contaminação através do alimento, já que nesta fase de produção (animais acima de 60 dias) é utilizada tanto maior quantidade de grãos na ração, quanto o volume diário total também é acrescido.

A diferença do número de colônias isoladas por amostra, entre os dois grupos analisados, pode ser influenciada por vários aspectos na suinocultura. O tipo de instalação, o estresse e as variações ambientais, são importantes no equilíbrio da microbiota, bem como na disseminação de micoses nos rebanhos (PIRES *et al.*, 1989). A reduzida variedade de fungos isolados, por amostra, na microbiota dos animais do grupo 1 (20-60 dias) pode ter sido influenciada pelo menor período em que os animais ficam alojados na mesma instalação, permitindo maior frequência de limpeza e desinfecção das mesmas, menor quantidade de grãos na produção da ração, bem como

por não ocorrer mistura de animais provenientes de diferentes origens (BERTOL, 1999).

A geotricose é uma enfermidade crônica freqüentemente provocada por uma ou mais espécies de *Geotrichum* (BURNETT e SCHUSTER, 1982). Segundo levantamento feito por ISHIKAWA *et al.* (1996), esse agente já foi isolado de suínos, bovinos, cães e eqüinos em diversos países. Estes mesmos autores salientam que, no Brasil, a geotricose cutânea tem sido assinalada com maior freqüência em eqüinos. Porém, em animais hígidos, apenas houve observação de 3,0%, cifra inferior aos 4,32% encontrados nos suínos assintomáticos no Rio Grande do Sul. Apesar da diferença estatística entre os grupos a geotricose em suínos é rara sendo diagnosticada em animais de ambas as idades.

Nos casos estudados sobre Dermatite Pustular Psoriaforme em suínos, alguns autores apontam uma etiologia específica, como no trabalho de PURCHIO *et al.* (1980), em que o *Scopulariopsis brevicaulis* é citado como o possível agente. No presente estudo, a prevalência do *Scopulariopsis brevicaulis* foi mais elevada no grupo 1 (animais de 20-60 dias), sendo, em grande parte, isolado em monocultura. Esses podem ser importantes fatores de risco na infecção e desencadeamento clínico da Dermatite Pustular Psoriaforme em suínos, já que a maior parte dos relatos desta patologia ocorre nesta faixa etária (CORCORAN, 1964; PORTUGAL *et al.*, 1982; CAMERON, 1999). *Scopulariopsis brevicaulis* também possui o aspecto de algumas cepas apresentarem a capacidade de dimorfismo, o que é considerado uma das características de patogenicidade fúngica (PAULA *et al.*, 1987b). Este também pode ser o agente de micoses de pele em humanos, como foi argumentado por COX e IRVING (1993).

Em uma avaliação da micobiota da crista de frangos adultos na Alemanha detectou-se uma prevalência total de leveduras da ordem de 29,8%, valor um pouco menor ao encontrado neste estudo. A presença do gênero *Candida* foi de 4,2%, sendo apenas 0,6% de *Candida albicans*, além de 3,6% de outras espécies (GRÜDER *et al.*, 2005). Os valores, desse mesmo gênero, foi o de maior prevalência tanto nos animais do grupo 1, quanto no grupo 2, sendo ambos superiores aos valores do estudo desenvolvido na Alemanha.

O gênero *Candida* é um contaminante muito importante para a medicina humana e veterinária. Esse gênero é um comensal do tubo digestivo sendo, para a suinocultura, três seus importantes reservatórios de contaminação: a - o próprio suíno; b - pássaros; c

– o homem (SIDRIM e ROCHA, 2004). Como, diferentemente da criação de frangos, os suínos são criados diretamente em contato com suas fezes, a quantidade de exposição ao fungo e a possibilidade de contaminação se torna muito mais freqüente.

C. albicans foi a espécie de levedura mais isolada em ambos os grupos, sendo estatisticamente diferente entre eles. O grupo de animais entre 20-60 dias de idade pode ter sido influenciado pela reduzida competição entre agentes, grande facilidade de contaminação a partir das matrizes pelo sucessivo contato com as suas fezes, contínuo uso de medicamentos, presença de vários manejos estressantes (desgastes dentários, vacinações, caudectomia, dentre outros) que podem permitir a colonização e estabelecimento facilitado desta espécie na primeira fase de produção.

Candidose em suínos pode se manifestar quando a defesa do hospedeiro está diminuída, e tem sido observada em leitões alimentados com restos alimentares e mantidos em precárias condições sanitárias, podendo acometer até 40% do rebanho (CAMERON, 1999). Várias doenças imunossupressoras são observadas em suínos, sendo algumas presentes também no Brasil, como ocorre com a Síndrome da Dermatite e Nefropatia Suína e a Síndrome Multissistêmica do Definhamento dos Suínos. Relatos da doença no estado do Rio Grande do Sul foram realizados tanto em suínos criados em sistemas comerciais complexos como em javalis (CORRÊA *et al.*, 2006; ZLOTOWSKI *et al.*, 2006). Esses animais, após serem acometidos por doenças virais, apresentaram quadros clínicos de candidose, demonstrando a importância deste agente fúngico na cadeia de produção.

As leveduras denominadas “em análise” foram as que, mesmo após a utilização de todas as metodologias propostas, não obtiveram a completa identificação de seu gênero. Sendo assim, outras técnicas estão sendo aplicadas para que seja possível a observação de suas características e a identificação da amostra.

6 CONCLUSÃO

As análises permitiram a identificação de 15 diferentes gêneros fúngicos, sendo 11 filamentosos e quatro leveduras.

A alta prevalência de gêneros como: *Candida*, *Mucor*, *Penicillium* e *Aspergillus*, em pele de suínos hígidos, podem adquirir importância patogênica caso os animais sofram influencia de agentes imunossupressores.

REFERÊNCIAS

AHO, R. Saprophytic fungi isolated from the hair of domestic and laboratory animals with suspected dermatophytosis. **Mycopathologia**. v. 83, p. 65-73, 1983.

ARDEN, M.; DORSCH, K.; FELLER, B.; HESSE, D.; HOOFS, A.; HOY, S.; HÜHN, U.; JAIS, C.; LEHNERT, H.; LUMB, S.; MEYER, C.; MEYER, E.; NEUMANN, H. **Gruppenhaltung tragender sauen**. 1th Ed, Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster-Hiltrup, p. 120, 2002.

BARCELLOS, D.E.S.N.; BOROWSKI, S.M.; FALLAVENA, L.C.B.; OLIVEIRA, S.J. Epidermite exsudativa suína: características clínicas e epidemiológicas de surto da doença em leitões desmamados. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**. Porto Alegre, v. 20, p. 9-20, 1992.

BARCELLOS, D.E.S.N.; SOBESTIANSKY, J. **Atlas de Doenças de Suínos**. Art 3, Goiânia, 1ª Ed., p. 47, 2003.

BARNETT, J.A; PAYNE, R.W.; YARROW, D. **Yeasts, characteristics and identification**. 4 th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 811 p., 2000.

BLÁHA, J.; JÍČÍNSKÁ, E.; VESELY, D.; JELÍNEK, R. The effect of moulds on the nutritional value of wheat. **Animal Feed Science and Technology**. v. 28, p. 315-324, 1990.

BERTOL, T.M. Alimentação dos leitões na creche de acordo com a idade de desmame. In: **Instrução Técnica para o Suinocultor**. Concórdia: Embrapa CNPSA. Número 13, 2p., 1999.

BURNETT, G.W; SCHUSTER, G.S. Microbiologia Oral y Enfermedad Infecciosa. In: **Infecciones Micóticas**. 1ª ED, Ed: Médica Panamericana, Buenos Aires, p. 409, 1982.

CAMARGO, R.M; SILVARES, M.R.; CARVALHO, C.R.; DILLON, N.L. *Microsporium nanum*. A 4th report of human infection in Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 34, p. 581-585, 1992.

CAMERON, R.D.A. Diseases of the skin. In: Straw, B. *et al.* **Diseases of Swine**. 8th Ed., Iowa State University Press, Ames, p. 941-958, 1999.

CAMPOS, S.G.; OLIVEIRA, A.J. Isolamento de *Microsporium nanum* de lesões de pele de suínos provenientes de Campo Grande – RJ. In: **21º Congresso Brasileiro de Médico (medicina) Veterinários (a)**. Salvador, BA, p. 116, 1988.

CAVALLINI SANCHES, E.M. ; BORBA, M.R. ; SPANAMBERG, A. ; PESCADOR , C. ; CORBELLINI. L.G.; RAVAZZOLO, A.P.; DRIEMEIER, D. ; FERREIRO,L. Co-infection of *Pneumocystis carinii* f. sp. suis and Porcine Circovirus-2 (PCV2) in pig lungs obtained from slaughterhouses in southern and Mmdwestern regions of Brazil. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. 53 (S1), p. S92-S94, 2006.

COLIN K. C.; ELIZABETH M. J.; CHRISTINE M. P.; DAVID W. W. **Identification o Pathogenic Fungi**. Public Health Laboratory, London, Somerset, p. 289, 1996.

CORCORAN, C. J. Pityriasis Rosea in Pigs. **The Veterinary Record**. v. 76, p. 1407-1409, 1964.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos. In: **Outras Micoses, Prototecose e Micotoxicoses**. 2^a ED, Ed: Médica e Científica, Rio de Janeiro, p. 461, 1992.

CORRÊA, A. M. R.; ZLOTOWSKI, P.; ROZZA, D. B.; BORBA, M. R.; LEAL J. S.; CRUZ, C. E. F. C.; DRIEMEIER, D. Postwaning multisystemic wasting syndrome in farmed wild boarws (*Sus scrofa*) in Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**. n. 26, p. 154-156, 2006.

COUTINHO, S.D.A.; CARVALHO, V.M.; COSTA, E.O. Surto de dermatomicose em cobaias por *Trichophyton mentagrophytes* e *Scopulariopsis brevicaulis*. **Clínica Veterinária**. n. 31, p. 30-32, 2001.

COX, N.H.; IRVING, B. cutaneous “ringworm” lesions of *Scopulariopsis brevicaulis*. **British Journal of Dermatology**. n. 123, p. 726-728, 1993.

DÍAZ, I.A.C; VARGAS, R.; APOLO, A.; MORAÑA, J.A.; PEDRANA, G.; CARDOZO, E.; ALMEIDA, E. Case report: Mycotic bovine nasal granuloma. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 45, p. 163-166, 2003.

DILKIN, P.; MALLMANN, C.A.; SATURIO, J.M.; HICKMANN, J.L. Classificação Macroscópica, Identificação da Microbiota Fúngica e Produção de Aflatoxinas em Híbridos de Milho. **Ciência Rural**. v. 30, p. 137-141, 2000.

DONHAM, K.J.; SCALLON, L.J.; PEPENDORF, W.; TREUHAFT, M.W.; ROBERTS, R.C. Characterization of dusts collected from swine confinement buildings. **American Industrial Hygiene Association Journal**. n. 47, p. 404-410, 1986.

FILTENBORG, O; FRISVAD, JC; THRANE, U. Moulds in food spoilage. **International Journal of Food Microbiology**. v. 33, p. 85-102, 1996.

GAMBALE, W.; CORREA, B.; PAULA, C.R.; PURCHIO, A.; LARSSON, C.E. Ocorrência de fungos em lesões superficiais de cães na cidade de São Paulo, Brasil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**. n. 24, p. 184-192, 1987.

GONZALES, M.L.; TAYLOR, D.C. **Cutaneous aspergillosis in a babirusa (*Babryrousa babyrussa*)**. The Veterinary Record, n. 14, p. 568, 1998.

GRÜNDER, S.; MAYSER, P.; REDMANN, T.; KALETA, E.F. Mycological examinations on the fungal flora of the chicken comb. **Mycoses**. v. 48, p. 114-119, 2005.

GRUNERT, P.M. "All in All out". **Suinoicultura Industrial**. v.3, p. 28-29, 1980.

GUY S.; RICHARD S. Identifying filamentous fungi. **A Clinical Laboratory Handbook**. Star Publishing Company, Belmont, USA, p. 314, 1996.

ISHIKAWA, M.M.; LUCAS, R.; LARSSON, C.E.; GAMBALE, W.; FERNANDES, W.R. Isolamento e identificação da microbiota fúngica e de dermatófitos da pele de eqüinos hígidos e daqueles afetados por dermatofitose. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 33, p. 170-175, 1996.

KIMURA, T.; DOI, K. Clinical and histopathological findings in pustular psoriaform dermatitis (Pityriasis Rosea) in pigs. **Journal Veterinary Medical Science**. v. 66, p. 1147-1150, 2004.

KNUDSON, B. Comparative advantages of pork production around the world. **Allen D. Lemn Conference**, v. 33, Minnesota, p. 3-9, 2006.

LUND, L.J. Pig veterinary society report from veterinary laboratories agencies. **Pig Journal**. v. 37, p. 55-58, 1996.

MARTIN, W.T.; ZHANG, Y.; WILLSON, P.; ARCHER, T.P.; KINAHAN, C.; BARBER, E.M. Bacterial and fungal flora of dust deposits in a pig building. **Occupational and Environmental Medicine**. n. 53, p. 484-487, 1996.

MACHADO, G.S. Implantação e condução de sistemas de produção segregada. In: **IV SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE SUINOCULTURA**. São Paulo, p. 122-137, 1999.

MARTHA E. K.; KATHLEEN S. B. **Micologia Médica**. Texto & Atlas. 2ª Ed, Editorial Premier, São Paulo, p. 256, 1999.

NEUDORF, R.; SEIDEL, H. **Enfermidades Del Cerdo**. 1ª Ed, Zaragoza: ed. Acribia, p. 665-666, 1974.

NEUFELD, P.M. **Manual de Micologia Médica: técnicas básicas de diagnóstico**. Rio de Janeiro: ed. Programa Nacional de Controle de Qualidade, p. 240, 1999.

NICOLAIEWSKY, S.; WENTZ, I.; COSTA, O.A.D.; SOBESTIANSKY, J. Sistema de produção de suínos. In: Sobestiansky *et al.* **Suinocultura intensiva: produção, manejo e saúde do rebanho**. 1ª Ed, EMBRAPA-CNPSA, p. 13-26, 1998.

PAIXÃO, G.C.; SIDRIM, J.J.C. Meios de cultura usados em micologia. In: SIDRIM, J.J. C.; MOREIRA, J.L.B. **Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 247-254, 1999.

PAULA, C.R.; COSTA, E.O; PIRES, M.F.C.; COUTINHO, S.D.; CARVALHO, V.M.; CASTILHO, W.; MORAL, M.S. *Scopulariopsis brevicaulis*: agente etiológico de dermatose em cães e eqüinos. **Revista Microbiologica**. v. 18, p. 366-370, 1987a.

PAULA, C.R.; PURCHIO, A.; GAMBALE, W.; CORREA, B. Dimorphism of *Scopulariopsis brevicaulis*: Morphogenesis of the mould to yeast phase. **Mycopathologia**. v. 100, p. 69-74, 1987b.

PIRES, D.C.; DEL BIANCHI, M.; PORTUGAL, M.A.S.C.; HIPÓLITO, M. Dermatômicose em Camundongos (*Mus Musculus*) de Biotério Devida a *Scopulariopsis* sp. **Biológico**. v. 55, p. 11-12, 1989.

PIRES, M.F.C; COUTINHO, S.D; PURCHIO, A.; KIPNIS, T.L.; NORONHA, M. Microbiota Fúngica na Pelagem de Camundongos de Linhagens Isogênicas e Congênicas Mantidos em biotério de Criação. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**. v. 23, p. 139-144, 1986.

PITTMAN, J.S.; ROBERTS, J.D. Ringworm in lactating sows. **Journal of Swine Health and Production**. v. 13, p. 86-90, 2005.

PORTUGAL, M.A.S.C.; PROBA, G.A.; SALIBA, A.M.; FARINHA, F.B. Pitiríase rosada dos suínos no Estado de São Paulo. **Biológico**. v. 48, p. 265-268, 1982.

PURCHIO, A.; MACHADO, A.; GAMBALE, W.; PAULA, C.R.; MARIANO, M. *Scopulariopsis brevicaulis*: a possible etiologic agent of pityriasis rosea in piglets. In: **Mycoses**, p. 104-111, 1980.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B.; SABINO, M. Micotoxin research in Brazil: The Last Decade in Review. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 33, p. 1-11, 2002.

ROLLER, J.A.; WESTBLOM, T.U. Microsporium nanum infection in hog farmers. **Journal of the American Academy of Dermatology**. v. 15, p. 935-939, 1986.

ROMANO, C.; GIANNI, C.; DIFONZO, E. M. Retrospective study of onychomycosis in Italy: 1985 – 2000. **Mycoses**, v. 48, p. 42-44, 2005.

SCHEIBER, A.R. Endemic ringworm and Staphylococcus hyicus infections: a case report. **Journal of Swine Health and Production**. v.3, p. 165-167, 1995.

SEGALÉS, J.; DOMINGO, M.; COLLELL, M.; JENSEN, H.E.; BLANCO, J.L. **Pulmonary Aspergilosis in a Post-Weaning Multisystemic Wastein Syndrome (PMWS) Affected Pig**. The Pig Journal, n. 52, p. 41-47, 2003.

SIDRIM, J.J.C.; ROCHA, M.F.G. **Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos**. 1ª Ed, Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 380 p., 2004.

SOBESTIANSKY, J.; MORES, N.; MORI, A.; PIFFER, I. Epidermite exsudativa associada a paraqueratose em suínos em crescimento: diagnóstico e controle de um surto. In: **Anais do IV Congresso Brasileiro de Veterinários Especialistas em Suínos**. Itapema, SC, p. 71, 1989.

TANAKA, M.A.S.; MAEDA, J.A.; PLAZAS, I.H.A.Z. Microflora Fúngica de Sementes de Milho em Ambientes de Armazenamento. **Scientia Agrícola**. v. 58, p. 501-508, 2001.

THAKUR, D.K.; VERMA, B.B. A note on the incidence of Trichophyton mentagrophytes infection in pigs and its zoonotic importance. **International Journal of Zoonoses**. v. 11, p. 123-125, 1984.

WELLMANN, G. Genetic predisposition to pityriasis rosea in piglets. **Berl. U. Münch. Tierärztl. Wschr.** v. 76, p. 107-111, 1963.

YARROW, D. Methods for the isolation, maintenance, and identification of yeasts. In: Kurtzman, C.P. e FELL, J.W. (eds). **The yeasts, a taxonomic study**. Amsterdam: Elsevier Science, p. 77-100 1998.

ZLOTOWSKI, P.; ROZZA, B. D.; PESCADOR, C. A.; BARCELLOS, D. E.; FERREIRO, L.; SANCHES, E. M. C.; DRIEMEIER, D. Muco-cutaneous candidiasis in two pigs with potswearing multisystemic wasting syndrome. **The Veterinary Journal**. v. 171, p. 566-569, 2006.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

<http://www.agricultura.gov.br/>. Data do acesso: 21 de março de 2007.

ANEXOS

Anexo1: Formulações de Meios de Cultivo

Agar Sabouraud:

Composição:

Dextrose	10 gramas
Peptona	5 gramas
Agar	10 gramas
Cloranfenicol	0,25 g
Água destilada.....	500 ml.

Modo de Preparo:

Dissolver o agar, peptona, dextrose e cloranfenicol em água destilada aquecendo em banho-maria até completar a dissolução de todos os componentes. Autoclavar por 15 minutos à temperatura de 121°C. Distribuir o meio em placas de petri e deixar solidificar.

Agar Batata:

Composição:

Batatas	250 gramas
Dextrose.....	10 gramas
Agar	8 gramas
Cloranfenicol	0,25 g
Água destilada.....	1000 ml.

Modo de Preparo:

Cozinhar 250 g de batata-inglesa (*Solanum tuberosum*) descascadas em 500 ml de água destilada, por uma hora a 60°C. Filtrar a infusão de batatas através de

papel de filtro. Restituir o volume inicial de água destilada (500 ml) e acrescentar 500 ml de água destilada. Adicionar 8 gramas de Agar, ferver para dissolver o ágar e então adicionar 10 grams de glucose (dextrose). Autoclavar 15 minutos a 121 graus C, posteriormente distribuir o meio em placas de petri e deixar solidificar.

Anexo2: Tabelas de Frequências da microbiota fúngica.**Tabela 1.** Frequência da microbiota da pele de suínos hígidos (n=261) criados em diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006.

Classe / Gênero	Número de Colonias Isoladas	Amostras Positivas (%)
ZIGOMICETOS		
<i>Mucor</i> spp.	21	4,13
<i>Absidia</i> spp.	4	0,79
Não Classificados	8	1,57
HIALOHIFOMICETOS		
<i>Penicillium</i> spp.	52	10,81
<i>Aspergillus flavus</i>	29	5,70
<i>Aspergillus fumigatus</i>	21	4,52
<i>Geotrichum</i> spp.	21	4,32
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	17	3,34
<i>Aspergillus</i> spp.	8	1,77
<i>Fusarium</i> spp.	6	1,18
<i>Aspergillus niger</i>	2	0,39
Mycelia sterilia	55	11,00
FEOHIFOMICETOS		
<i>Cladosporium</i> spp.	46	9,04
<i>Curvularia</i> spp.	3	0,58
<i>Alternaria</i> spp.	3	0,58
<i>Aerobasidium</i> spp.	1	0,20
LEVEDURAS		
<i>Candida albicans</i>	69	13,56
<i>Trichosporon</i> spp.	22	4,32
<i>Candida parapsilosis</i>	3	0,58
<i>Rhodotorula</i> spp.	2	0,39
<i>Candida tropicalis</i>	1	0,20
<i>Candida famata</i>	1	0,20
<i>Pichia ohmeri</i>	1	0,20
Em análise	105	20,63
TOTAL	501	100,00

Tabela 2. Frequência da microbiota da pele de suínos hígidos com 20-60 dias de vida (n=94) criados em diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006.

Classe / Gênero	Número de Colonias Isoladas	Amostras Positivas (%)
ZIGOMICETOS		
<i>Mucor</i> spp.	16	6,13
<i>Absidia</i> spp.	2	0,77
Não Classificados	7	2,68
HIALOHIFOMICETOS		
<i>Penicillium</i> spp.	23	8,81
<i>Aspergillus flavus</i>	7	2,68
<i>Aspergillus fumigatus</i>	8	3,07
<i>Geotrichum</i> spp.	19	7,28
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	10	3,84
<i>Aspergillus</i> spp.	4	1,54
<i>Fusarium</i> spp.	4	1,54
<i>Aspergillus niger</i>	1	0,38
<i>Mycelia sterilia</i>	17	6,52
FEOHIFOMICETOS		
<i>Cladosporium</i> spp.	16	6,13
<i>Curvularia</i> spp.	1	0,38
<i>Alternaria</i> spp.	0	0,00
<i>Aerobasidium</i> spp.	1	0,38
LEVEDURAS		
<i>Candida albicans</i>	53	20,31
<i>Trichosporon</i> spp.	8	3,07
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0,38
<i>Rhodotorula</i> spp.	1	0,38
<i>Candida tropicalis</i>	1	0,38
<i>Candida famata</i>	1	0,38
<i>Pichia ohmeri</i>	1	0,38
Em análise	59	22,59
TOTAL	261	100,00

Tabela 3. Frequência da microbiota da pele de suínos hígidos acima de 60 dias de vida (n=167) criados em diversos municípios do Rio Grande do Sul no período de abril de 2005 a abril de 2006.

Classe / Gênero	Número de Colonias Isoladas	Amostras Positivas (%)
ZIGOMICETOS		
<i>Mucor</i> spp.	5	2,01
<i>Absidia</i> spp.	2	0,81
Não Classificados	1	0,40
HIALOHIFOMICETOS		
<i>Penicillium</i> spp.	32	12,90
<i>Aspergillus flavus</i>	22	8,87
<i>Aspergillus fumigatus</i>	15	6,05
<i>Geotrichum</i> spp.	3	1,21
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	7	2,82
<i>Aspergillus</i> spp.	5	2,01
<i>Fusarium</i> spp.	2	0,81
<i>Aspergillus niger</i>	1	0,40
<i>Mycelia sterilia</i>	39	15,73
FEOHIFOMICETOS		
<i>Cladosporium</i> spp.	30	12,10
<i>Curvularia</i> spp.	2	0,81
<i>Alternaria</i> spp.	3	1,21
<i>Aerobasidium</i> spp.	0	0,00
LEVEDURAS		
<i>Candida albicans</i>	16	6,45
<i>Trichosporon</i> spp.	14	5,65
<i>Candida parapsilosis</i>	2	0,81
<i>Rhodotorula</i> spp.	1	0,40
<i>Candida tropicalis</i>	0	0,00
<i>Candida famata</i>	0	0,00
<i>Pichia ohmeri</i>	0	0,00
Em análise	46	18,55
TOTAL	248	100,00