



III Congresso On-line Nacional de Clínica Veterinária de Pequenos Animais

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DE *CANDIDA* SPP. NA MICROBIOTA ORAL DE CÃES ATENDIDOS NA CLÍNICA VETERINÁRIA DA UNIFACS, SALVADOR – BA

LORENA DE CÁSSIA SOUZA CAIRES DA SILVA; POLIANA MASCARENHAS DE
ABREU; PALOMA EMÍLIA RIOS CAFEZEIROS; MÔNICA COSTA DE ABREU;
MARCOS ANTÔNIO PINTO MENDONÇA DA SILVA

RESUMO

Candida spp. é um organismo comensal presente na cavidade oral de humanos e animais, sendo considerado um fungo oportunista. A candidíase é uma das doenças micóticas mais recorrentes na medicina veterinária e vem apresentando crescente importância, especialmente para cães. Entretanto, estudos que avaliem a composição da microbiota oral destes animais e seu potencial patogênico ainda são escassos. A identificação e caracterização morfológica destas leveduras é fundamental para fornecer subsídios ao correto diagnóstico e instituição do protocolo terapêutico. O presente trabalho teve como objetivo identificar de forma morfológica *Candida* spp., a partir de amostras obtidas da cavidade oral de doze cães atendidos na Clínica Veterinária da UNIFACS, Salvador – BA, que foram cultivadas em meio ágar sabouraud dextrose acrescido de cloranfenicol, e, posteriormente, identificadas através da análise de seus aspectos macromorfológicos e micromorfológicos. Observou-se o crescimento de múltiplas colônias com características compatíveis as de *Candida* spp. em 58,3% das amostras. A maioria dos participantes já apresentava algum grau de doença periodontal e a halitose foi a alteração da cavidade oral mais observada (85,7%). Apenas 42,9% dos cães realizavam a escovação dos dentes com regularidade e 14,3% já havia passado pelo procedimento de limpeza de tártaro. Os dados obtidos permitiram concluir que os participantes do estudo apresentavam em sua microbiota oral microrganismos similares a *Candida* spp. A baixa frequência de escovação dos dentes está relacionada ao desenvolvimento de doença periodontal e pode contribuir para a ocorrência processos infecciosos, comprometendo o bem-estar dos cães, evidenciando a importância da conscientização dos tutores acerca dos cuidados com a saúde oral de seus animais.

Palavras-chave: candidíase; micologia; caninos; cavidade oral; microbiologia.

1 INTRODUÇÃO

A microbiota oral de seres humanos e animais é composta por uma alta diversidade de fungos e bactérias, que, em geral, não provoca prejuízos à saúde de indivíduos hígidos (BRAGA et al., 2005; CASTELO-BRANCO et al., 2020). Entretanto, infecções fúngicas tem sido cada vez mais recorrentes tanto na medicina humana quanto na veterinária, sendo as leveduras do gênero *Candida* spp. um das mais comumente relatadas como agentes patogênicos em animais (BRAGA et al., 2005; NAVARRO et al., 2020).

Estes fungos comensais habitam a microbiota da pele, trato gastrointestinal, mucosa genital e oral de humanos e de diversas espécies de animais (RUIZ, 2015; CASTELO-

BRANCO et al., 2020). Estão amplamente distribuídos na natureza e, quando em equilíbrio, atuam como uma barreira natural para a mucosa oral, protegendo-a contra agressões de agentes etiológicos exógenos. No entanto, fatores como imunossupressão, doenças endócrinas e metabólicas, uso indiscriminado de medicamentos como glicocorticoides, antibióticos, distúrbios hormonais e nutricionais e o comprometimento de barreiras anatômicas de proteção podem causar desequilíbrio e multiplicação exacerbada destes microrganismos, resultando em processos infecciosos (BRAGA et al., 2005; SANTIN, 2009; RUIZ, 2015).

O gênero *Candida* spp. possui como característica uma elevada variabilidade morfológica, podendo sofrer uma transição reversível para facilitar sua penetração na barreira epitelial do hospedeiro. Entre os diferentes formatos apresentados por estas leveduras pode-se observar células em brotamento unicelulares ou formas filamentosas como hifas ou pseudo-hifas, que exercem diferentes funções no estabelecimento de patologias. (CIUERA et al., 2020).

De acordo com a imunocompetência do hospedeiro e as características da cepa envolvida, infecções inicialmente superficiais podem tornar-se disseminadas. A candidíase é uma das doenças micóticas mais diagnosticadas na rotina clínica de pequenos animais. Na microbiota oral de cães *Candida* spp. apresenta-se com elevada frequência, sendo relevante devido ao seu potencial patogênico (RUIZ, 2015). Nestes animais pode causar cistite, dermatomicoses, otite, endoftalmite, infecção gastrointestinal e sepse (BRITO et al., 2009; RUIZ, 2015).

Um dos principais agentes de infecções fúngicas em humanos e animais é *C. albicans*. Entretanto, espécies não-albicans, tem ganhado relevância devido a expressão de fatores de virulência e emergente resistência a antimicrobianos, bem como ao potencial risco de transmissão zoonótica (BRILHANTE et al., 2014; CÂNDIDO et al., 2021; ZHAI et al., 2021). A associação de tais fatores tem sido motivo de preocupação na medicina veterinária (CASTELO-BRANCO et al., 2020; NAVARRO et al., 2020).

Dados sobre a diversidade de espécies do gênero *Candida* spp. encontradas em animais no Brasil ainda são escassos (CÂNDIDO et al., 2021). A falta de conhecimento sobre a distribuição deste patógeno emergente, em grande parte dos casos, torna o diagnóstico laboratorial das infecções tardio e inconsistente, resultando em tratamento prolongado, aumento das chances de insucesso e até mesmo de óbito do paciente (VAN DE GROEP et al., 2018). Ressaltando assim, a importância da identificação da espécie envolvida associada ao teste de susceptibilidade para obtenção de uma melhor resposta terapêutica (BRILHANTE et al., 2014).

Considerando sua importância para a medicina veterinária, bem como o impacto na saúde única, a escassez de estudos relacionados ao tema e ao crescente relato de cepas resistentes a fármacos antimicrobianos, o presente trabalho teve como objetivo obter isolados da microbiota oral de caninos, identificando de forma morfológica *Candida* spp., além de, determinar a prevalência de alterações presentes na cavidade oral de cães atendidos na Clínica Veterinária da UNIFACS, Salvador – BA.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de pacientes caninos atendidos na Clínica Veterinária da UNIFACS, Salvador, Brasil, durante o exame físico destes animais, mediante a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) pelos tutores. Os participantes foram selecionados de forma aleatória entre os meses de março e abril de 2023.

Classificou-se os animais quanto a idade (de zero a dois anos; de três a cinco anos; acima de seis anos), sexo (macho; fêmea) e conformação cranial (dolicefálicos; mesocefálicos; braquicefálicos). Durante a coleta das amostras procedeu-se a avaliação da cavidade oral quanto a presença de alterações (halitose, sangramento gengival, estomatite, cálculos e fraturas

dentárias), descritas na ficha de identificação do animal, adaptada da metodologia adotada por Santin (2009).

A coleta foi realizada com a utilização de swabs estéreis aplicados, com movimentos de rolamento, sobre a gengiva dos animais e, posteriormente, armazenados em tubos e levados ao Laboratório Multidisciplinar da UNIFACS, Campus Professor Barros, onde foram semeados em placas de Petri contendo o meio de cultura ágar sabouraud dextrose (SDA) suplementado com cloranfenicol e incubadas a 37° C por 48 horas (ANVISA, 2004 apud SOKOLONSKI et al., 2021).

As placas que apresentaram crescimento fúngico foram analisadas quanto aos seus aspectos macro e micromorfológicos. A avaliação macroscópica foi realizada através da observação das características morfológicas e de crescimento das colônias. Em seguida, foram feitos repiques das amostras para isolar os agentes encontrados e, a partir destes, confeccionadas lâminas para o exame microscópico direto, onde empregou-se técnica de coloração de Gram para confirmação da sua micromorfologia, que foi observada com o auxílio da objetiva de 100x de aumento.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas amostras da cavidade oral de doze cães, das quais cinco foram excluídas do estudo por não apresentarem crescimento (sendo consideradas negativas) ou por possuírem características incompatíveis as do gênero pesquisado. Sete (58,3%) apresentaram crescimento de colônias similares a *Candida* spp. Este valor é inferior ao encontrado por Navarro et al., (2020) que identificaram *Candida* spp. em 86% das amostras obtidas da mucosa oral de cães de rua, sendo a maioria da *Candida albicans*. Neste trabalho também foi detectada uma espécie pouco relatada em caninos, identificada como *C. zeylanoides*.

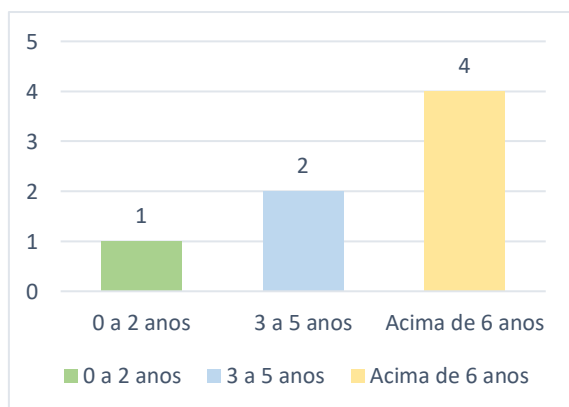


Gráfico1. Classificação dos animais dos animais com culturas similares à *Candida* spp. com relação à idade.

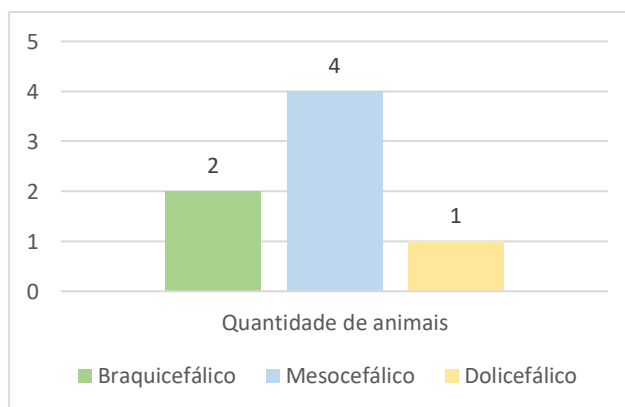


Gráfico 2. Classificação dos animais dos animais com culturas similares à *Candida* spp. com relação conformação cranial.

A escolha dos participantes ocorreu de forma aleatória, sem critério de idade e sexo. A maioria dos cães eram machos, correspondendo a 57,1% do total de animais analisados, os 42,9% restantes eram fêmeas. A idade média foi de 7,3 anos (Gráfico 1). Quanto a sua conformação cranial, 57,1% eram mesocefálicos, 28,6% braquicefálicos e 14,3% dolicocefálico (Gráfico 2).

Durante a avaliação de alterações na cavidade oral dos animais não verificou-se presença de corpo estranho e fraturas dentárias em nenhum dos participantes. A halitose foi constatada em 85,7% dos animais e somente 14,3% apresentava hemorragia gengival. Quanto ao grau de

doença periodontal, apenas 14,3% não apresentava sinais clínicos, sendo considerado grau zero. Foram classificados como grau um 28,6%, outros 28,6% como grau dois, 14,3% como grau três e 14,3% como grau quatro. Apenas 14,3% apresentavam periodontite, e 14,3% havia passado por algum tipo de procedimento em cavidade oral, sendo relatada pelo tutor a realização de limpeza de tártaro. Em relação a escovação dos dentes, 42,9% cães realizavam na frequência de uma ou duas vezes por semana, 57,1% realizavam de forma esporádica ou nunca. Dois tutores relataram realizar a escovação em casa e um em petshop.

As principais características observadas nas amostras selecionadas pelo presente estudo foram o crescimento de múltiplas colônias glabras, de coloração branca a bege, opacas ou brilhantes, de textura cremosa, com bordas que variavam entre regulares e irregulares e odor de levedo. Tais aspectos são compatíveis com as descrições macromorfológicas de *Candida* spp. encontradas em diversas literaturas (BRITO, 2008; MEZZARI E FUENTEFRIA, 2012; PINTO et al., 2019).

Ao exame microscópico direto foram observadas pequenas estruturas fúngicas gram-positivas, semelhantes a blastoconídios de *Candida* spp., de formato arredondado e ovalado, dispostas em forma de cachos. Zhai et al., (2021) encontraram estruturas similares em porcas com infecção gastrointestinal fatal na China provocada por *C. tropicalis*. Segundo Brito (2008), na análise microscópica é possível visualizar blastoconídios que podem conter ou não brotações, e, caso as lâminas sejam preparadas diretamente com fragmentos das colônias ou amostras clínicas positivas, poderão ser observados apenas os blastoconídios.

Em relato de infecções cerebrais por *C. albicans* em dois cães, Souto et al. (2018) observaram diferentes padrões morfológicos deste fungo. Sendo o primeiro caracterizado por delicadas estruturas tubulares com paredes finas e paralelas, raramente septadas, com leves ondulações (hifas verdadeiras). O segundo padrão foi representado por cadeias de levedura alongadas, separadas por constrições em locais septais (pseudo-hifas). E um terceiro padrão morfológico, raramente observado, caracterizava-se por células leveduriformes em brotamento, arredondadas, alongadas pelo tubo germinativo.

4 CONCLUSÃO

Os dados obtidos permitem concluir que os cães atendidos na Clínica Veterinária da UNIFACS apresentam em sua microbiota oral microrganismos similares a *Candida* spp., sendo relevante a sua correta identificação, devendo-se considerar sua associação ao quadro clínico apresentado pelo paciente, a fim de estabelecer a prescrição terapêutica mais acertada quando houver possibilidade de interação patogênica com esta levedura. Pode-se perceber também, que a grande maioria dos animais já apresentava algum grau de doença periodontal, tinham mais de 6 anos de idade e que menos da metade dos participantes realizava a escovação dos dentes. Estes fatores contribuem para formação de biofilme e cálculos dentários que podem gerar processos infecciosos e comprometer o bem-estar destes animais, evidenciando a importância da conscientização dos tutores acerca dos cuidados com a saúde oral dos cães.

REFERÊNCIAS

BRAGA, C. A. B. *et al.* Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães do Pastor Alemão. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 385-390, mar-abr, 2005.

BRILHANTE, R. S. N et al. Antifungal susceptibility and virulence attributes of animal-derived isolates of *Candida parapsilosis* complex. **Journal of Medical Microbiology**, v. 63, p. 1568-1572, 2014.

BRITO, E. H. S. **Uma abordagem fenotípica e molecular em leveduras do gênero *Candida* isoladas de cães**. 2008. 135p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008.

BRITO, E. H. S. *et al.* PCR-AGE, automated and manual methods to identify *Candida* strains from veterinary sources: A comparative approach. **Veterinary Microbiology**, v. 139, p. 318–322, 2009.

CÂNDIDO, S. L. *et al.* Isolamento e perfil de resistência de *Candida* spp. de animais domésticos e selvagens. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, 2021

CASTELO-BRANCO, D. S. C. M *et al.* Azole resistance in *Candida* from animals calls for the One Health approach to tackle the emergence of antimicrobial resistance. **Medical Mycology**, v. 58, n. 7, p. 896–905, out, 2020.

CIUERA, C. N. *et al.* *Candida* and Candidiasis - opportunism versus pathogenicity: a review of the virulence traits. **Microorganisms**. v. 8, n. 6, 2020.

MEZZARI, A.; FUENTEFRÍA, A. M. Micologia no laboratório clínico. Manole, Barueri – SP, 1ª ed. 2012

NAVARRO, B. S. *et al.* Antifungal sensitivity and species of yeasts in oral mucosa of street mixed-breed dogs. **Journal de Mycologie Médicale**. 2020.

PINTO, P. N. *et al.* **Atlas de micologia: medicina veterinária**. Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia. UFMG. n. 94, p. 27 – 34. Belo Horizonte: FEPMVZ Editora, 2019.

RUIZ, L. S. Candidíase em cães e gatos. *In*: JERICÓ, M. M.; NETO, J. P.; KOGIKA, M. M. **Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos**. 1. ed. São Paulo: Gen Roca, 2015, p. 776-779.

SANTIN, R. **Isolamento, identificação e suscetibilidade in vitro de leveduras isoladas da cavidade oral de fêmeas caninas**. 2009. 89 p. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal - Veterinária Preventiva) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009.

SOKOLONSKI, *et al.* Activity of antifungal drugs and Brazilian red and green propolis extracted with different methodologies against oral isolates of *Candida* spp. **BMC Complement Med Ther**, v. 21, n. 1, nov, 2021.

SOUTO, E. P. F. *et al.* Cerebral *Candida albicans* Infection in Two dogs. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n. 6, 2018.

VAN DE GROEP, K., *et al.* Development and first evaluation of a novel multiplex real-time PCR on whole blood samples for rapid pathogen identification in critically ill patients with sepsis. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 37, n.7, p. 1333–1344, 2018.

ZHAI, L. *et al.* Isolation and identification of *Candida tropicalis* in sows with fatal infection: a case report. **BMC veterinary research**, v. 17, n. 1, p. 108, 2021.