

Virulência *in vitro* de *Candida* spp. isoladas da orofaringe de *Struthio camelus* (Linnaeus, 1758)*

Felipe Victório de Castro Bath¹, Raphael Ribeiro Scherer², Caroline Fagundes Tarcitano³, Daniel Paiva Barros de Abreu⁴, Sergio Gaspar de Campos⁵ e Francisco de Assis Baroni⁵⁺

ABSTRACT. Bath F.V.C., Scherer R.R., Tarcitano C.F., Abreu D.P.B., Campos S.G. & Baroni F.A. [*In vitro* virulence of *Candida* spp. isolated from oropharynx of *Struthio camelus* (Linnaeus, 1758).] Virulência *in vitro* de *Candida* spp. isoladas da orofaringe de *Struthio camelus* (Linnaeus, 1758). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(Supl.2):139-144, 2016. Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, Zona Rural, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: baroni@ufrj.br

The objective of this study was to check the presence of yeasts from genus *Candida* in the oropharynx of ostriches (*Struthio camelus*) and also evaluate *in vitro* production of virulence factors. This observation is relevant considering the extension of this kind of production and the lack of knowledge about the microorganisms and potentially infectious agents that this large bird. The animals were divided into four groups, according to their age, totalizing 80 samples. The sample collection was performed using swabs and processed in Sabouraud Dextrose Agar. After the isolation of positive samples, the yeasts were identified by macromorphology and micromorphology evaluation and also assimilation and fermentation tests, added to complementary proofs. From the total of samples, 32.5% showed the presence of yeasts, alone or with molds. The identification of *C. albicans* corresponded to 65.38% of the isolates. The major part of isolates was strongly positive for production of protease and approximately half of these were also producers of phospholipases, what suggests the potential of virulence even in commensal agents.

KEY WORDS. Yeast, ostriches, protease, phospholipase.

RESUMO. Nosso objetivo foi verificar o percentual de isolamentos de *Candida* spp. em orofaringe de avestruzes e avaliar a virulência *in vitro* das espécies isoladas. A motivação para esta pesquisa deveu-se ao fato do avestruz ser uma espécie exótica e pelo não conhecimento do potencial de micro-organismos que esta possui. Os animais foram divididos em quatro grupos, totalizando 80 amostras. A pes-

quisa da presença do agente nos *swabs* oriundos das aves foi realizada por processamento dos mesmos, com semeadura em meio Ágar Sabouraud dextrose, acrescido de cloranfenicol. As confirmações de isolamento foram realizadas por meio de avaliação macromorfológica, micromorfológica, realização de auxanograma, zimograma e testes complementares. Do total de amostras processadas da orofa-

*Recebido em 27 de setembro de 2016.

Aceito para publicação em 25 de outubro de 2016.

Trabalho original da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

¹ Consultório Veterinário Birds & Cia, Rua do Matoso, 65, Praça da Bandeira, Rio de Janeiro, RJ 20270-133. E-mail: felipebath@hotmail.com

² Médico-veterinário, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465, Km 7, Zona Rural, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: rrscherer@gmail.com

³ Médica-veterinária, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), UFRRJ, BR 465, Km 7, Zona Rural, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: caroline.tarcitano1@gmail.com

⁴ Médico-veterinário, PPGMV, UFRRJ, Seropédica, RJ BR 465, Km 7, Zona Rural, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: abreudpb@gmail.com

⁵ Médico-veterinário, Departamento de Microbiologia e Imunologia Veterinária, Instituto de Veterinária (IV), UFRRJ, BR 465, Km 7, Zona Rural, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: gascam@globocom; + Autor para correspondência, E-mail: baroni@ufrj.br

ringe, 32,5% revelaram crescimento leveduriforme, único ou acompanhado de fungos filamentosos. O crescimento de *Candida albicans* correspondeu a 65,38% do total de isolados leveduriformes. A maioria dos isolados foi fortemente positiva para a produção de proteases e aproximadamente metade destas amostras também mostrou-se positiva para a produção de fosfolipases, o que sugere a alta virulência destas amostras.

PALAVRAS-CHAVE. Levedura, avestruz, protease, fosfolipase.

INTRODUÇÃO

A criação de avestruzes (*Struthio camelus*), inicialmente como atividade de produção de plumas, teve início no século XIX, sendo que nos últimos anos, houve um interesse mundial pela produção da carne considerada de alta qualidade, plumas e couro (Sotiraki et al. 2001, Gordo et al. 2002, Melville et al. 2004). A carne é considerada uma alternativa atraente pelo teor protéico, baixo teor de lipídios e perfil de ácidos graxos saturados, representando vantagem em relação à prevenção de doenças cardiovasculares.

O gênero *Candida* possui em torno de 300 espécies, 17 das quais de interesse clínico (Karkowska-Kuleta et al. 2009, Kurtzman et al. 2011). Deste montante, três ou quatro são responsáveis por mais de 90% das ocorrências denominadas candidíases. Os estudos epidemiológicos são importantes para a abordagem preventiva e racional bem como para o controle das infecções. Existem várias deficiências na habilidade de prevenção, diagnóstico precoce e preciso, bem como no tratamento das infecções causadas por leveduras do gênero *Candida*. Poucos são os relatos sobre patogenicidade e epidemiologia, principalmente com relação às aves em geral e, praticamente desconhecem-se informações completas acerca de avestruzes.

O habitat natural de várias espécies de *Candida* é amplo, estando ligado a várias espécies de animais domésticos e uma variedade de mamíferos selvagens e aves. Tem como habitat as mucosas digestivas (endosaprófita) e genital, sendo também encontrada no trato respiratório, pregas cutâneas e espaços interdigitais (Murray 2006). Com relação às aves, esta levedura encontra-se em áreas como a pele, mucosa oral, orofaringe, englúvio, mucosa do trato digestivo e cloaca. Em avestruzes, foi relatada predominância de *C. albicans* na orofaringe, seguindo-se outros micro-organismos fúngicos e bactérias (Melville et al. 2004). Na orofaringe, a *Candida* integra-se a outros micro-organismos existentes, como bactérias, outras leveduras e protozoários. A compatibilidade da co-

existência dessa população microbiana com a saúde decorre do desenvolvimento, desde o nascimento, de mecanismos imunológicos e processos de adaptação e readaptação contínuos, através dos quais se estabelece vínculo biológico entre o organismo e os micro-organismos que ele abriga (Staib et al. 2000). Tal vínculo garante a condição comensal desses micro-organismos, pelo estabelecimento de equilíbrio ecológico denominado anfibiiose e que caracteriza uma situação dinâmica intermediária entre a simbiose e a antibiose (Tronchin et al. 1991).

É grande o polimorfismo clínico decorrente da ação patogênica de *Candida albicans*, a principal espécie envolvida. A doença assume desde formas clínicas localizadas, tais como estomatite, até formas graves generalizadas, existindo entre estes extremos uma gama de configurações clínicas (Sidrim & Rocha 2004, Karkowska-Kuleta et al. 2009). As lesões podem ocorrer em qualquer região do tegumento cutâneo ou superfícies mucosas, além de outros sítios. A possibilidade de identificar as espécies e avaliar seu grau de virulência é um fator importante no desenvolvimento de medidas de prevenção e controle das candidíases.

A infecção produzida por linhagens do gênero *Candida* pode ser aguda ou crônica, superficial ou profunda, localizada ou disseminada e quase sempre de caráter oportunista. Embora nos animais imunocompetentes, a *Candida albicans* seja um habitante normal das mucosas, a mesma emerge, quando o organismo apresenta fatores predisponentes patológicos, fisiológicos ou iatrogênicos. A intensidade da doença depende do grau de alteração do sistema imunológico (Haynes 2001). O estabelecimento não ocorre unicamente em função da baixa de imunidade do hospedeiro, mas também pela habilidade da levedura de se adaptar a novos nichos, dependente da expressão de genes relacionados à infecção. São atributos celulares e moleculares relacionados com a virulência destas leveduras, como produção de determinadas enzimas, adesinas, biofilmes e alterações morfológicas que facilitam a entrada em tecidos (Staib et al. 2000, Karkowska-Kuleta et al. 2009).

A infecção por *Candida* iniciaria pela aderência da levedura às células da pele e da mucosa e seguiria com a multiplicação celular, formando posteriormente, dependendo da espécie, tubo germinativo, produzindo proteases e fosfolipases, permitindo a sua penetração e a consequente resposta inflamatória, causando danos aos tecidos vizinhos ao local da invasão celular (Haynes 2001). O tubo germinativo é o precursor da hifa e o grau de

filamentação está implicado na virulência, pois há formação de micélio associado ao processo de infecção progressiva. Dentre as afecções que afetam os animais, podemos destacar as estomatites, mastites, linfadenites pulmonares e intestinais, cistites e afecções sistêmicas (Marruchella 2011).

A produção de enzimas como as fosfolipases e proteinases são os fatores de virulência mais estudados do gênero *Candida*, por permitirem a penetração da levedura nas células, ocasionando resposta inflamatória com danos aos tecidos subjacentes. Dependendo do estado imunológico do hospedeiro e da habilidade do micro-organismo, a colonização, inicialmente superficial, pode se disseminar. O primeiro degrau no desenvolvimento de candidíase sistêmica é a colonização no trato gastrointestinal, geniturinário, orofaringe, pele e mucosas em geral (Ghannoum 2000).

Numerosas proteinases são produzidas pelo gênero *Candida*, inclusive por diferentes cepas de uma mesma espécie e também por uma mesma cepa, quando variam as condições de cultivo. Estas catalisam a quebra das ligações peptídicas em proteínas e aminoácidos, utilizando o produto de sua degradação como nutriente (Vermelho & Branquinha 2000). Atuam ainda no ciclo de infecção de vários outros micro-organismos participando do catabolismo de proteínas, tanto nas vias degradativas como nas biossintéticas, liberação de hormônios peptídicos, coagulação sanguínea, morte celular e diferenciação de tecidos (Calderone & Fonzi 2001). A natureza e a função das proteinases de *C. albicans* possuem atividade proteolítica em pH baixo (2 a 4), com uma especificidade muito ampla, que inclui queratina, colágeno, mucina, albumina, hemoglobina, cadeia pesada de imunoglobulinas e proteínas de matriz extracelular (Ruchel et al. 1982). Estão envolvidas no processo de invasão tecidual e aderência nos tecidos do hospedeiro. *C. albicans* e *C. tropicalis* causam infecção em animais imunocomprometidos por possuírem inclusive uma aspartato-proteinase extracelular, considerada o principal fator de virulência (Newport & Agabian 1997, Koelch et al. 2000).

As fosfolipases tem função essencial na infecção fúngica, desfazendo a membrana celular e permitindo que a hifa penetre no citoplasma, facilitando a adesão do fungo às células do hospedeiro (Staib et al. 2000), por degradarem fosfolipídios, que são as estruturas essenciais da maioria das biomembranas (Mago & Khuller 1990). A produção de fosfolipase por *Candida* spp. está envolvida no processo de patogenicidade destas espécies (Price & Cawson 1997). Verifica-se ainda elevada atividade fosfoli-

pásica na extremidade de hifas desenvolvidas por blastoconídios de *Candida* spp., quando em contato com a membrana celular do hospedeiro (Bennet et al. 1998), estando este fator relacionado a uma maior aderência ao epitélio oral e vaginal. Em decorrência, a membrana, quase imediatamente começa a sofrer transformações celulares (Niewerth & Korting 2001). A atividade lipolítica dessas enzimas de *Candida albicans* foi estudada principalmente para a fosfolipase A e para a lisofosfolipase, cujos pHs ótimos de produção foram respectivamente 4,0 e 5,0. Sabe-se, no entanto, que outras espécies de *Candida*, como *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* e *C. krusei* também produzem fosfolipases extracelulares (Barret-Bee et al. 1985, Mitrovic et al. 1995, Kantarcioglu & Yuçel 2002).

O objetivo do presente trabalho visa determinar a frequência de leveduras pertencentes ao gênero *Candida* em orofaringe de avestruzes, assim como avaliar *in vitro* o grau de virulência das espécies isoladas, através da análise de produção de fosfolipase e de protease.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a viabilização deste projeto, foram visitados criatórios de avestruzes, onde o manejo é considerado zootecnicamente adequado, localizados nos Municípios de Itaboraí (22°46'27.50" S X 42°52'02.00" O) e em Magé (22°36'21.60" S X 43°05'50.70" O), microrregião do Rio de Janeiro, RJ (Figura 1). As propriedades possuem médico veterinário responsável técnico pela criação e os protocolos sanitários estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A pesquisa teve o consentimento dos proprietários e aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa. As aves adultas foram contidas utilizando-se um capuz e as menores e filhotes tiveram contenção apenas manual. Realizou-se a avaliação clínica e a coleta de material da orofaringe com prévia antissepsia das mãos do operador com solução de álcool iodado, além do uso de luvas de procedimento. As aves foram divididas em quatro grupos de acordo com a faixa etária, a saber: Grupo I (0-3 meses de idade), Grupo II (3-6 meses de idade), Grupo III (6-12 meses) e Grupo IV (idade superior a 12 meses). Foram coletadas amostras da orofaringe mediante o emprego de *swabs* estéreis previamente imersos em tampão PBS. Os mesmos foram introduzidos na orofaringe, sendo rotacionados na mucosa da mesma. O material foi refrigerado e transportado ao Laboratório de Leveduras Patogênicas e Ambientais (LLPA) do Depto de Microbiologia e Imunologia Veterinária da UFRRJ. Os *swabs* foram semeados em placas de Petri contendo Sabouraud dextrose (4%) (Difco Laboratories®) acrescido de cloranfenicol (100 mg/L) e de extrato de levedura 1% e, com igual procedimento em meio idêntico, porém livre de antimicrobiano. Foram empregadas duas placas de cada meio por amostra, incubadas em temperatura ambiente e a 37



Figura 1. Avestruzes adultas de criatório localizado em Magé, um dos locais de coleta.

°C por período de 10 dias com leituras a partir das 72 horas. Todo o processo foi realizado em cabine de segurança biológica de nível II. Colônias emergentes foram transferidas para novo meio de cultivo, sem antibióticos, incubadas a 37°C durante o processo de identificação.

Foram realizados exames macromorfológicos das colônias e posteriormente exames micromorfológicos a partir da confecção de lâminas com lactofenol azul de algodão e nigrosina. As colônias com micromorfologia compatível com as leveduras, foram suspensas em salina estéril e novamente passadas para meio Sabouraud dextrose a 4%, mediante técnica de esgotamento da alça microbiológica, para obtenção de colônias puras, oriundas de célula única, e que pudessem expressar o potencial de produção das enzimas pesquisadas.

Para a identificação, utilizou-se informações de Kurtzman et al. (2011) prioritariamente e o protocolo de identificação de leveduras do LLPA. Considerou-se características macromorfológicas, culturais e micromorfológicas como produção de pseudohifa e/ou hifas verdadeiras, clamidoconídios, arranjos de blastoconídios e características nutricionais verificadas por testes de assimilação de fontes carbonadas e nitrogenadas, fermentação de fontes carbonadas e testes complementares. Para a assimilação (auxanograma), testou-se lactose, glicose, sacarose, melibiose, maltose, rafinose, trealose, ramnose, celobiose, galactose, inulina, melezitose, inositol, xilose, eritritol, adonitol, manose, dulcitol, arabinose, xilitol e sorbose, empregando-se o meio Yeast Nitrogen Base (YNB - Difco Laboratories®). As fontes nitrogenadas foram peptona, nitrato de potássio (KNO₃) e N-ace-

til-glicosamina utilizando-se o meio Yeast Carbon Base (YCB - Difco Laboratories®).

O teste de produção de fosfolipase foi realizado como proposto por Price et al. (1982), utilizando-se meio contendo gema de ovo e CaCl₂. Para a produção de protease, considerou-se o estabelecido por Ruchel et al. (1982), utilizando-se meio contendo soroalbumina bovina (Fração V - Sigma®). As amostras, antes dos testes, foram repicadas para meio de Sabouraud dextrose a 4%, cultivadas por 48 horas para ativação das células. Para as duas provas, as amostras foram semeadas assepticamente em um ponto único, central, na superfície dos meios ágar fosfolipase e meio para protease, contidos em placas de Petri, efetuando-se o teste em duplicata. As leituras ocorreram a partir das primeiras 72 horas até o 15º dia. Os valores das atividades fosfolipásicas e de produção de proteases foram obtidos efetuando-se a razão entre os diâmetros das colônias (dc) e os diâmetros dos halos formados (dcp). Nos testes de fosfolipase ocorre precipitação de CaCl₂ e nos testes de protease, o halo é de degradação da soroalbumina bovina. As leituras iniciaram no terceiro dia (72 horas) e continuaram até o 15º dia. Os valores obtidos foram classificados com os graus 1, 2 e 3, significando respectivamente “negativo”, “positivo” e “forte positivo” de acordo com Price et al. (1982).

RESULTADOS

Os resultados de isolamento obtidos a partir do processamento das 80 amostras podem ser vistos na Tabela 1, que aponta o crescimento leveduriforme, filamentosos ou misto. Do total de amostras, 32,5% resultaram em crescimento leveduriforme, seja ele único ou misto com fungos filamentosos. Os fungos filamentosos foram evidenciados em 75% das amostras (68% *Aspergillus* spp.). Não se observou correlação entre prevalência fúngica e idade das aves. As espécies de leveduras isoladas encontram-se na Tabela 2, na qual pode-se verificar que *Candida albicans* representou 65,38% dos isolamentos leveduriformes.

Com relação à produção de fosfolipase por cepas de *Candida albicans*, 8 das 17 cepas mostraram-se positivas para a produção de fosfolipase enquanto 10 mostraram-se fortemente positivas para a produção de protease, três positivas e quatro negativas. Apenas uma das cepas foi positiva para

Tabela 1. Tipos de crescimento fúngico e espécies de leveduras isoladas de acordo com os grupos trabalhados.

Grupos	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Rodothorula</i> spp.	Filamentosos	Filamentosos e leveduras	Negativo
I	5	1	1	1	10	4	1
II	3	1	-	1	12	2	2
III	4	1	1	1	15	5	3
IV	5	-	-	1	9	3	2
Total	17	3	2	4	46	14	8

Tabela 2. Resultados da produção das enzimas proteases e fosfolipases de amostras de leveduras isoladas da orofaringe de avestruzes.

Amostra	Isolado	Fosfolipase*	Protease*	Amostra	Isolado	Fosfolipase*	Protease*
1	<i>C. guilliermondii</i>	3	3	14	<i>C. guilliermondii</i>	2	1
2	<i>C. albicans</i>	1	3	15	<i>C. guilliermondii</i>	2	1
3	<i>C. albicans</i>	1	3	16	<i>C. albicans</i>	2	3
4	<i>C. albicans</i>	1	3	17	<i>C. albicans</i>	1	3
5	<i>C. albicans</i>	2	3	18	<i>C. albicans</i>	2	1
6	<i>C. albicans</i>	2	3	19	<i>C. krusei</i>	1	3
7	<i>C. albicans</i>	2	2	20	<i>C. albicans</i>	1	1
8	<i>C. albicans</i>	2	3	21	<i>C. albicans</i>	1	1
9	<i>C. albicans</i>	1	2	22	<i>Rodothorula</i> spp.	2	3
10	<i>C. albicans</i>	1	1	23	<i>Rodothorula</i> spp.	2	1
11	<i>Rodothorula</i> spp.	1	2	24	<i>C. albicans</i>	2	3
12	<i>Rodothorula</i> spp.	1	1	25	<i>C. albicans</i>	2	3
13	<i>C. albicans</i>	1	2	26	<i>C. krusei</i>	3	3

* [1] = Negativo; [2] = Positivo; [3] = Forte positivo.

fosfolipase e negativa para protease. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 2.

DISCUSSÃO

Ressalte-se aqui a já conhecida grande associação de *Candida* spp. com aves em geral. Ainda nos primórdios do conhecimento deste micro-organismo, primeiros anos do século XIX, o mesmo denominava-se *Monilia albicans* e assim foi reportado com associação com a maioria dos casos de lesões tipo aftas ou “sapinhos” em galinhas e perus. Pesquisadores, à época, notaram que esta infecção micótica estava associada à higiene (Velasco et al. 2000, Kurtzman et al. 2011).

O isolamento de 75% de fungos filamentosos nas amostras pode ter relação com os hábitos alimentares das aves. Em todas as fases da vida, todas ingerem ração como dieta principal, além de capim, leguminosas como feijão Guandu (*Cajanus cajan*) e alfafa (*Medicago sativa*), fontes estas que podem conter grande quantidade de fungos filamentosos. Uma análise da ração, água e referidas fontes vegetais fica como sugestão para análises futuras, utilizando os mesmos como marcadores. A enfermidade promovida por estes agentes isolados, já foi relatada em avestruzes como agentes principais ou como oportunistas relacionados ou não a um comprometimento imunológico (Khosravi et al. 2008). Outro fator a ser considerado é que estes fungos filamentosos são também carregados pelo ar e, embora tenhamos tomado todos os cuidados com antisepsia pré-coleta, as mesmas ocorreram nos criatórios, a céu aberto.

Os isolamentos de leveduras são parcialmente concordantes com os achados de Melville et al. (2004). Estes autores isolaram 44% de *Candida albicans* (única espécie) em relação a toda amostragem

e 8% de *Rodothorula* spp. No presente relato, *C. albicans* representou 65,38% dos isolamentos puros de leveduras e a 42,5% quando consideramos os isolamentos mistos com filamentosos. Por outro lado, isolamos duas outras espécies do gênero *Candida* (*C. guilliermondii* e *C. krusei*) também importantes.

A ausência de correlação entre os isolados e a idade das aves pode ter explicação no manejo, uma vez que os animais, independente da idade, recebiam a mesma alimentação desde o primeiro dia de vida, com contato direto a solo e grama.

Nas aves em geral, *Candida albicans* é uma levedura oportunista que promove uma variedade de patologias que envolvem o trato digestório e frequentemente promove inflamação do engúvio (Marruchela et al. 2011). Entretanto, são escassos os relatos de candidíase em avestruzes. Podemos reportar Verwoerd (2000) que relatou infecção respiratória. Este gênero de fungos unicelulares e em particular *C. albicans* pode promover doenças primárias em aves. Nesta pesquisa provamos a capacidade patogênica destas espécies “*in vitro*” o que significa que deficiências imunológicas ou situações que levem a baixa de imunidade como o estresse, deficiências vitamínicas, como avitaminose A, má nutrição subclínica e outros fatores poderão levar ao favorecimento de quadros de candidíase.

Pessoas que trabalham diretamente com avestruzes devem tomar medidas profiláticas relacionadas à antisepsia. Orientações e treinamento devem ser realizados pelo profissional veterinário que assiste as propriedades, uma vez que o número de casos de candidíase e de outras doenças fúngicas é considerável, havendo influência da produção de proteases e de fosfolipases, considerados fatores de virulência. Avestruzes podem apresentar doenças decorrentes do manejo e de condições do criatório, incluindo o fato que o interesse pela criação

dos mesmos vem crescendo mundialmente, tendo como consequência um aumento na descrição de doenças. Portanto, conhecer a biota destes animais auxiliará no entendimento de doenças que sejam dela decorrentes.

Uma análise de amostras de leveduras isoladas de aves, passeriformes e migratórias (Cefarchia et al. 2008) revelou que aproximadamente 60% dos isolados possuíam atividade fosfolipásica, destacando-se *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* dentre outras. Se compararmos ao comportamento dos isolados obtidos de avestruzes, verificamos que os mesmos são preocupantes, pois tivemos 47,5% dos isolados positivos para a produção de fosfolipase, percentual que sobe para 54,54% quando se consideram também os isolados de *C. guilliermondii* e *C. krusei*. Por outro lado, a produção de protease, principal fator de patogenicidade, foi positiva para 58,8% das amostras de *Candida albicans*, sendo que dentre as positivas, 75% foram consideradas forte produtoras, de acordo com os critérios empregados para esta estimativa (Ruchel et al. 1982).

Consideremos também que infecções profundas ou sistêmicas, embora raras possam ocorrer com comprometimento do sistema circulatório, ossos, órgãos parenquimatosos. Nos casos em que ocorre a formação de “placas” ou áreas puntiformes brancas, necrose pseudomembranosa e outras alterações, ocorre a participação de enzimas como a fosfolipase e a protease, por sua capacidade de quebrarem fosfolípidios das membranas celulares e degradarem proteínas, favorecendo a instalação da *Candida* spp. nestes sítios.

CONCLUSÕES

A microbiota fúngica da orofaringe de avestruzes, nas amostras analisadas, está constituída por espécies de *Candida*, com predominância de *C. albicans* e de fungos filamentosos, notadamente pertencentes ao gênero *Aspergillus*. Aparentemente este segundo gênero encontra-se mais presente em função dos hábitos alimentares dos avestruzes. Não há diferenças na composição da biota fúngica com relação às idades das aves. A maior parte as amostras de *Candida* oriundas destas aves é produtora de fosfolipase e forte produtora de proteinase, enzimas relacionadas com os mecanismos de patogenicidade.

REFERÊNCIAS

Barret-Bee K., Haynes Y., Wilson R.G. & Ryley J.F. A comparison of phospholipase activity, cellular adherence and pathogenicity of yeasts. *Journal of General Microbiology*, 131:1217-1221, 1985.
Bennet D.E., McCreary C.E. & Coleman D.C. Genetic characterization of a phospholipase C gene from *Candida albicans*: presence of ho-

mologous sequences in *Candida* species other than *Candida albicans*. *Microbiology*, 144:55-2, 1998.
Calderone R.A. & Fonzi W.A. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, 9:327-334, 2001.
Cefarchia A., Romito D., Coccioli C., Camarda A. & Otranto D. Phospholipase activity of yeasts from wild birds and possible implications for human disease. *Medical Mycology*, 46:429-434, 2008.
Ghannoum M.A. Phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. *Clinical Microbiology Reviews*, 13:124-134, 2000.
Gordo F.P., Herrera S., Castro A.T., García-Durán B. & Martínez-Díaz R.A. Parasites from farmed ostriches (*Struthio camelus*) and rheas (*Rhea americana*) in Europe. *Veterinary Parasitology*, 107:137-160, 2002.
Haynes K. Virulence in *Candida* species. *Trends in Microbiology*, 9:591-596, 2001.
Kantarcioğlu A.S. & Yuçel A. Phospholipase and protease activities in clinical *Candida* isolates with reference to the sources of strains. *Mycoses*, 45:160-165, 2002.
Karkowska-Kuleta J., Rapala-Kosik M. & Kozik A. Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. *Acta Biochimica Polonica*, 56:211-224, 2009.
Koelch G., Tang J., Loy J.A., Monod M., Jackson K., Foundling S.I. & Lin X. Enzymic characteristics of secreted aspartic proteases of *Candida albicans*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 140:117-131, 2000.
Khosravi A.R., Shokri H., Ziglari T., Naeini A.R., Mousavi Z. & Hashemi H. Outbreak of severe disseminated aspergillosis in a flock of ostrich (*Struthio camelus*). *Mycoses*, 51:557-559, 2008.
Kurtzman C.P., Fell J. & Boekhout T. *The Yeasts, a taxonomic study*. 5th ed. Elsevier, Amsterdam, 2011. 2080p.
Mago N. & Khuller G.K. Subcellular localization of enzymes of phospholipid metabolism in *Candida albicans*. *Journal of Medical and Veterinary Mycology*, 28:355-362, 1990.
Marruchella G., Todisco G., D'Arezzo S., Di Guardo G. & Paglia M.G. Granulomatous myocarditis caused by *Candida albicans* in a canary (*Serinus canaria*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 25:205-209, 2011.
Melville P.A., Cogliati B., Mangiaterra M.B.B.C.D., Peres M.R., Moura S.C., Matsuda L., Kim A. & Benites N.R. Determinação da microbiota presente na cloaca e orofaringe de avestruzes (*Struthio camelus*) clinicamente sadios. *Ciência Rural*, 34:1871-1876, 2004.
Mitrovic S., Kranjic-Zec I., Arsic V. & Dzamic A. *In vitro* proteinase and phospholipase activity and pathogenicity of *Candida* species. *Journal of Chemotherapy*, 7:43-45, 1995.
Murray P.R., Rosenthal K.S. & Pfaller M.A. *Microbiologia Médica*. Mosby Elsevier, Rio de Janeiro, 2006. 979p.
Newport G. & Agabian N. Kex2 influences *Candida albicans* proteinase secretion and hyphal formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 272:28954-28961, 1997.
Niewerth M. & Korting H.C. Phospholipases of *Candida albicans*. *Mycoses*, 44:361-367, 2001.
Price M.F. & Cawson R.A. Phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, 20:7-14, 1997.
Price M.F. Plate Methods form detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*, 20:15-20, 1982.
Ruchel R., Tegeler R. & Tost M. A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. *Sabouraudia*, 20:233-234, 1982.
Sidrim J.J.C. & Rocha M.F.G. *Micologia Médica à Luz dos Autores Contemporâneos*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004. 388p.
Sotiraki S.T., Georgiades G., Antoniadou-Sotiriadou K. & Himonas C.A. Gastrointestinal parasites in ostriches (*Struthio camelus*). *Veterinary Record*, 148:84-86, 2001.
Staib P., Kretschmar M., Nichterlein T., Hof H. & Morschauer J. Differential activation of *Candida albicans* virulence gene family during infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97:6102-6107, 2000.
Tronchin G., Bouchara I.P., Annaix V., Robert T. & Senet J.M. Fungal cell adhesion in *Candida albicans*. *European Journal of Epidemiology*, 7:23-33, 1991.
Velasco M.C. Candidiasis and Cryptococcosis in birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 9:75-81, 2000.
Vermelho A.B. & Branquinha M.H. Proteases de Microrganismos. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31:25-29, 2000.
Verwoerd D.J. Ostrich diseases. *Reviews in Science Technology*, 19:638-661, 2000.