

EDUARDO JOSÉ DE CARVALHO REIS

**LEVEDURAS PATOGÊNICAS EM FEZES DE AVES DE CATIVEIRO:
RELAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA ENTRE OS ISOLADOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Margarete Teresa Gottardo de Almeida

São José do Rio Preto, SP
2015

Reis, Eduardo José de Carvalho.

Leveduras patogênicas em fezes de aves de cativeiro : relação fenotípica e genotípica entre os isolados / Eduardo José de Carvalho Reis -- São José do Rio Preto, 2015

100 f. : il., tabs.

Orientadora: Margarete Teresa Gottardo de Almeida

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Microbiologia. 2. Fungos patogênicos. 3. Ave doméstica – Esterco. 4. Atividade antifúngica. 5. Levedos. I. Almeida, Margarete Teresa Gottardo de. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 582.28

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

EDUARDO JOSÉ DE CARVALHO REIS

**LEVEDURAS PATOGÊNICAS EM FEZES DE AVES DE CATIVEIRO:
RELAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA ENTRE OS ISOLADOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientadora: Prof^a Dr^a Margarete Teresa Gottardo de Almeida

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Margarete Teresa Gottardo de Almeida / Orientadora

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Prof^a Dr^a Ana Marisa Fusco Almeida / Titular

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - UNESP/FCFAR

Prof^a Dr^a Debora Aparecida Pires de Campos Zuccari/ Titular

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

São José do Rio Preto
19 de junho de 2015

DEDICATÓRIA

*Aqui quero dedicar não só este trabalho,
mas todas as vitórias e glórias à minha família,
que sempre me forneceu amor, carinho e apoio.
Esta conquista é tão minha quanto deles.*

AGRADECIMENTOS

Acredito que ninguém consegue nada sem a ajuda do outro. As realizações e conquistas são acompanhadas de pessoas que contribuem para sua concretização, sejam de maneira direta ou indireta. Aqui quero agradecer as pessoas que fizeram parte de mais esta etapa, um sonho a realidade que vivo hoje!

Dou início agradecendo toda proteção espiritual e tudo que sou. Todas minhas virtudes são oriundas da criação que recebi da minha família, especialmente dos meus pais Edilma Monteiro de Carvalho e José Ivo do Reis, que sempre estiveram me apoiando. Também aos meus irmãos Eder Monteiro de Carvalho e Leonardo de Carvalho Reis, e à minha sobrinha Yasmin Monteiro de Carvalho. Obrigado por estarem presentes em todos os momentos da vida me dando coragem e força para prosseguir em meus sonhos.

Gostaria de agradecer profundamente a Prof^ª Dr^ª Margarete Teresa Gottardo de Almeida, em que com toda sua sabedoria, atenção, paciência, generosidade e tanto outros atributos que não caberia descrever em simples palavras, permitiu não só a execução do projeto, mas sim um verdadeiro crescimento pessoal e aprendizado de vida.

Um parêntese muito especial à Prof^ª Dr^ª Elza Maria Castilho, que sem a qual, acredito que esta realização não seria possível. Em sua inteligência, generosidade, sábios conselhos e palavras, sempre veio a me conduzir ao crescimento profissional, espiritual e pessoal. Muito obrigado!

A mais que querida técnica do laboratório Luceli Ferreira de Souza, com sua intensa colaboração, amizade e carinho, sempre disposta a ajudar e confortar com uma palavra amiga.

Às pessoas que me aturam a maior parte, meus amigos e companheiros de laboratório, uma segunda família. Entre eles: Prof^ª Cleuzenir Toschi Gomes Barbieri, Nátaíia Seron Brizzotti, Maísa Sartim, Bianca Gottardo de Almeida, Emília Cristina Giansella Amorin, Maicon Henrique Caetano, Mariela Ribeiro, Tiago Henrique, Lorena Galet, Beatriz Ricardo e Derly Tescaro. Em especial à Luciani Gaspar de Toledo pela amizade e parceria. Também àqueles que não estão mais no laboratório fisicamente, mas que estão profundamente ligados ao meu coração em amizade e agradecimento: Mayara Gambelini, Larissa Sposito, Luis Paulo Teixeira, Matheus Ramos, Máira Arroyo, João Paulo Zen, entre tantos outros que já passaram por lá.

Aos meus amigos e companheiros de jornada do Laboratório Centro de Investigação de Microrganismos: Evelin Martins, Mayra Mataruco, Tiago Casella, Carolina, Giseli e Naiady pelo apoio e agradável companhia. Em especial à Simone Quintão, que sempre solícita, atenciosa, amigável e paciente tanto me ajudou. Também a Prof^ª Dra Mara Côrrea Leles Nogueira pelos conhecimentos e disponibilidade do laboratório.

Aos amigos do Laboratório de Virologia, Gislaine Dutra, Lucas, Milene Ribeiro, Natália Zini, Tauyne Menegaldo, Tatiana Colombo, Katia Ozanic, Carolina Pacca e Ana Carolina Terzian pelos inúmeros momentos de descontração e pela agradável companhia. Em especial ao Prof. Dr Aripuanã Watanabe (Ari) que com toda sua paciência e disposição veio a contribuir. Ao Prof. Dr. Maurício Lacerda Nogueira, pela colaboração e por ceder o Laboratório de Pesquisa em Virologia para realização deste trabalho.

À Profª Drª Tatiana Elias Colombo por ser tão solícita e desde há muito tempo, dando apoio e incentivo na jornada acadêmica.

À todos aqueles que forneceram as amostras e contatos de criatórios para coleta-las, entre eles Vitor Rafael Regiani e Fábio Franco, que na ausência dos quais não seria possível a execução deste trabalho.

À minha amiga Mayla Abraham Costa, que mesmo de tão longe vem me incentivando e ajudando tanto.

Aos meus primos Flávia Almeida de Carvalho e Rafael Almeida de Carvalho pelas incontáveis e impagáveis situações de companheirismo, emoções e risos. Vocês também foram essenciais. Muito obrigado!

Ao meu grande amigo, Leandro Santos de Lima (Lobão) que sempre nas horas boas e difíceis estava disponível para bater um papo, descontraír, contribuindo demais nesta fase da vida.

À todos os demais amigos (não seria capaz de descrever os nomes de todos), que vieram à contribuir de outras maneiras.

À todos os funcionários, especialmente a equipe de limpeza e manutenção, além dos funcionários do setor de pós-graduação, tanto da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto e como os do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, por serem tão solícitos e prestativos.

Ao Prof. Dr. Arif Cais e a Profª Drª Márcia Maria Costa Nunes Soares, por terem participado da banca de qualificação e pelas sugestões de melhora.

À comissão examinadora deste trabalho, Profª Drª Ana Marisa Fusco Almeida e Profª Drª Debora Aparecida Pires de Campos Zuccari, pela disponibilidade e terem aceitado a tarefa de arguir este trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo imprescindível apoio financeiro.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração de Pássaro-do-amor.....	16
Figura 2 – Ilustração de Galo.....	17
Figura 3 – Ilustração de Periquito-australiano.....	18
Figura 4 – Ilustração de Calopsita.....	19
Figura 5 – Ilustração de Canário.....	20
Figura 6 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de <i>Agapornis</i> spp.....	54
Figura 7 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de <i>Agapornis</i> spp.....	55
Figura 8 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de <i>Gallus gallus</i>	57
Figura 9 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de <i>Gallus gallus</i>	58
Figura 10 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de <i>M. undulatus</i>	59
Figura 11 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de <i>M. undulatus</i>	60
Figura 12 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de <i>N. hollandicus</i>	62
Figura 13 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de <i>N. hollandicus</i>	63
Figura 14 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de <i>S. canaria</i>	64
Figura 15 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de <i>S. canaria</i>	66
Figura 16 – Dendograma obtido através dos perfis de bandas gerados com o primer M13 para 50 isolados de <i>Candida albicans</i>	69
Figura 17 – Dendograma obtido através dos perfis de bandas gerados com o primer M13 para 34 isolados de <i>Candida guilliermondii</i>	70
Figura 18 – Dendograma obtido através dos perfis de bandas gerados com o primer M13 para 36 isolados de <i>Candida tropicalis</i>	71
Figura 19 – Dendograma obtido através dos perfis de bandas gerados com o primer M13 para 34 isolados de <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Levantamento bibliográfico dos principais gêneros de leveduras isolados de aves.....	22
Tabela 2 – Levantamento bibliográfico de infecções por espécies de <i>Cryptococcus</i> não- <i>neoformans</i> e não- <i>gatti</i> em humanos.....	28
Tabela 3 – Levantamento bibliográfico de infecções por espécies de <i>Cryptococcus</i> não- <i>neoformans</i> e não- <i>gatti</i> em animais.....	30
Tabela 4 – Valores de ponto de corte sugeridos para interpretação de teste de suscetibilidade de leveduras.....	44
Tabela 5 – Incidência do resultado positivo para leveduras de acordo com a espécie aviária estudada.....	49
Tabela 6. Distribuição dos espécimes de leveduras isoladas, de acordo com a espécie de ave estudada.....	51
Tabela 7 – Quadro geral de percentuais e quantidade (N) dos isolados de cada espécie aviária relacionada à suscetibilidade antifúngica.....	53
Tabela 8 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados fúngicos de <i>Agapornis</i> spp.....	55
Tabela 9 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de <i>Agapornis</i> spp.....	56
Tabela 10 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de <i>Gallus gallus</i>	57
Tabela 11 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de <i>Gallus gallus</i>	58
Tabela 12 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de <i>M. undulatus</i>	60
Tabela 13 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de <i>M. undulatus</i>	61
Tabela 14 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de <i>N. hollandicus</i>	62
Tabela 15 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de <i>N. hollandicus</i>	63
Tabela 16 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de <i>S. canaria</i>	65
Tabela 17 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de <i>S. canaria</i>	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
COBRAP	Confederação Brasileira de Criadores de Pássaros Nativos
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
Estab.	Estabelecimento
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FCZ	Fluconazol
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ITZ	Itraconazol
MIC	Concentração Inibitória Mínima
MSP-PCR	PCR pela técnica de mini/microsatélite
PCR	Reação de cadeia da polimerase
PIB	Produto Interno Bruto
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA
Resist	Resistência ao antifúngico
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SDD	Suscetibilidade dose-dependente ao antifúngico
Sens	Sensibilidade ao antifúngico
SNC	Sistema Nervoso Central
UBABEF	União Brasileira de Avicultura

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	14
2.1. A inter-relação homem-animal.....	15
2.2. Breve histórico e características das aves estudadas.....	16
2.2.1. Pássaro-do-amor (<i>Agapornis spp</i>).....	16
2.2.2. Galinha (<i>Gallus gallus domesticus</i>).....	17
2.2.3. Periquito-australiano (<i>Melopsittacus undulatus</i>).....	18
2.2.4. Calopsita (<i>Nymphicus hollandicus</i>).....	19
2.2.5. Canário (<i>Serinus canaria domesticus</i>).....	19
2.3. Caracterização das aves como veiculadoras de microrganismos.....	20
2.4. Leveduras como parte da microbiota e fezes de aves.....	21
2.5. Potencial patogênico das leveduras isoladas de aves.....	25
2.6. Perfil de suscetibilidade antifúngica.....	32
2.7. Epidemiologia molecular: perfil genotípico.....	33
3. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA.....	36
4. OBJETIVOS.....	38
4.1. Objetivo geral.....	39
4.2. Objetivos específicos.....	39
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
5.1. Seleção e coletas das amostras.....	41
5.2. Número de amostras.....	41
5.3. Análise Micológica.....	41
5.4. Identificação.....	42
5.5. Testes de suscetibilidade microbiana.....	42
5.5.1. Antifungigrama por Difusão em Disco	42
5.5.2. Antifungigrama por Microdiluição.....	43
5.6. Análise Molecular.....	45
5.6.1. Extração do DNA.....	45
5.6.2. Reação de PCR- <i>fingerprinting</i>	46
5.6.3. Condições eletroforéticas.....	46
5.6.4. Avaliação da similaridade dos padrões de bandas.....	47
6. RESULTADOS.....	48
6.1. Positividade para as leveduras.....	49
6.2. Distribuição dos isolados.....	49
6.3. Resistência antifúngica.....	52
6.4. PCR- <i>Fingerprinting</i>	66
7. DISCUSSÃO.....	72
8. CONCLUSÕES.....	78
9. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	80

RESUMO

Os homens e animais possuem uma relação milenar, em que o grupo das aves, em especial, é utilizado amplamente para diversas finalidades, tais como alimentação e companhia. As aves são retratadas como disseminadoras de patógenos ao ambiente, entretanto, o conhecimento a respeito deste papel a determinadas espécies aviárias, intimamente correlacionadas ao ser humano, são um tanto escassos. O presente trabalho teve como objetivos isolar, identificar e caracterizar o fenótipo e o genótipo de leveduras obtidas de fezes de cinco aves de cativeiro: galinha (*Gallus gallus domesticus*), Pássaro-do-amor (*Agapornis* spp), Periquito-australiano (*Melopsittacus undulatus*) calopsita (*Nymphicus hollandicus*) e canário (*Serinus canaria domesticus*). Para tanto, foram avaliadas 247 amostras de fezes destas cinco espécies aviárias, provenientes de sete cidades localizadas na região noroeste do estado de São Paulo, Sul de Minas Gerais e sudoeste do Mato Grosso do Sul. A coleta foi realizada com auxílio de espátulas estéreis. O material foi semeado em ágar Sabouraud dextrose e ágar semente de Níger, como titulações. A identificação das espécies baseou-se nas características macro e micromorfológicas, e bioquímicas. Ademais, todos os isolados identificados, foram submetidos ao teste de antifungigrama por disco-difusão (CLSI, documento M44-A), frente a anfotericina B, cetoconazol, fluconazol e itraconazol. Aqueles que apresentavam padrões de suscetibilidade dose-dependente ou resistente, foram submetidos ao teste de microdiluição em caldo (CLSI, documento M27-A3). A ocorrência de leveduras se deu em 89% das amostras, variando de 77,5% a 94,0% independente da ave estudada. Foram obtidos 318 isolados, pertencentes a 29 espécies diferentes. O gênero prevalente foi *Candida* com 183 isolados (57,5%), seguido de *Cryptococcus* com 45 (14,2%), *Rhodotorula* com 38 (11,9%) e *Trichosporon* com 36 (11,3%); os demais gêneros totalizaram 16 isolados (5,0%). Nota-se que, em relação ao número de isolados por espécie fúngica, *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis* e *Rhodotorula mucilaginosa* corresponderam às de maior ocorrência. Evidencia-se que 76 isolados (23,9%) apresentaram resistência ou dose-dependência ao fluconazol, e 113 (35,5%) ao itraconazol. Não foi possível estabelecer padrões genéticos dos microrganismos relacionados à ave, cidade fonte ou genótipo, com algumas exceções. Em suma, as aves estudadas podem ser consideradas potenciais agentes distribuidores de leveduras resistentes à azólicos, comprometedoras da saúde humana, especialmente, em indivíduos imunocomprometidos, crianças e idosos.

Palavras-chave: leveduras, aves de cativeiro, *Gallus gallus domesticus*, *Agapornis* spp, *Melopsittacus undulatus*, *Nymphicus hollandicus*, *Serinus canaria domesticus*, suscetibilidade antifúngica, MSP-PCR, genotipagem.

ABSTRACT

Men and animals have an age-old relationship, where the group of birds, in particular, is widely used for various purposes, such as food and company. Men and animals have an age-old relationship, where the group of birds in particular is widely used for various purposes, such as food and company. The birds are portrayed as disseminators of pathogens to the environment, however, knowledge about this role certain avian species, closely correlated to humans, are somewhat scarce. This study aimed to isolate, identify and characterize the phenotype and the genotype obtained yeast stool five captive birds: chicken (*Gallus gallus domesticus*), Love bird (*Agapornis* spp), Budgerigar (*Melopsittacus undulatus*) cockatiel (*Nymphicus hollandicus*) and canary (*Serinus canaria domesticus*). Therefore, we evaluated 247 stool samples of these five avian species from seven cities located in the northwest from State of São Paulo, southern of Minas Gerais and southwestern Mato Grosso do Sul. The collection was performed using sterile spatulas. The material was seeded in Sabouraud dextrose agar and seed Niger agar, with titrations. The identification of species was based on biochemical and macro and micromorphological characteristics. In addition, all isolates identified were submitted to antifungal susceptibility testing by disk diffusion (CLSI, M44-A), compared to amphotericin B, ketoconazole, fluconazole and itraconazole. The occurrence of yeasts occurred in 89% of samples, ranging from 77.5% to 94.0% of the studied independently bird. There were obtained 318 isolates belonging to 29 different species. There were obtained 318 isolates belonging to 29 different species. The prevalent genus isolated was *Candida* with 183 (57.5%), followed by *Cryptococcus* with 45 (14.2%), *Rhodotorula* with 38 (11.9%) and *Trichosporon* with 36 (11.3%); other genres totaled 16 isolates (5.0%). Note that, in the number of fungal species isolated, *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis* and *Rhodotorula mucilaginosa* corresponded to the most frequent. It was observed that 76 isolates (23.9%) were resistant or dose-dependency to fluconazole, and 113 (35.5%) to itraconazole. Unable to establish genetic patterns of microorganisms related to bird, fountain city or genotype, with some exceptions. In short, the birds studied can be considered potential distribution agencies of yeasts resistant to azoles, compromising human health, especially in immunocompromised individuals, children and the elderly.

Key-words: yeasts, captive birds, *Gallus gallus domesticus*, *Agapornis* spp, *Melopsittacus undulatus*, *Nymphicus hollandicus*, *Serinus canaria domesticus*, Antifungal susceptibility, MSP-PCR, genotyping.

1. INTRODUÇÃO

As aves são animais que possuem uma inter-relação milenar com o ser humano. Sempre os animais foram elementos integrantes do meio ambiente, todavia, a partir da mudança de hábitos antrópicos, aliado ao crescimento populacional, iniciou-se o processo de domesticação. Este processo é marcante até os dias de hoje, em que a humanidade se utiliza do grupo animal, especialmente das aves, para a obtenção de diversos recursos, como por exemplo, para a alimentação e companhia.

Diversos estudos demonstram a presença e dispersão de patógenos pelas aves, em especial leveduras, por meio de fômites que as fezes possuem. As leveduras constituem microrganismos eucarióticos que tem a possibilidade de colonizar diversos hospedeiros ou até ocasionar doenças, como patógenos primários ou oportunistas. Neste sentido, as ferramentas disponíveis para o seu controle são um tanto escassas.

De ocorrência mundial, as infecções fúngicas em humanos e animais tiveram um aumento nos últimos anos. Em especial no ser humano, um fator justificante é o crescimento da população com algum tipo de imunodeficiência, entre pacientes HIV positivos, transplantados, com terapia prolongada de corticoides ou antibacterianos, e idosos. Evidencia-se também um importante fator alarmante, o surgimento de cepas com fenótipos de resistência aos medicamentos convencionais, que aliado à baixa disponibilidade de drogas antifúngicas, torna a emergência destas doenças de difícil tratamento.

As leveduras são veiculadas por aves, embora que sejam escassos dados científicos que descrevam este papel a determinadas espécies avícolas intimamente ligadas ao ser humano, assim como a rastreabilidade de cepas resistentes nestes nichos ambientais, além do conhecimento dos padrões genéticos associados.

Considerando a popularidade das aves e o interesse na prevenção de patologias ocasionadas por fungos, os resultados aqui obtidos poderão colaborar com a caracterização de fontes de microrganismos resistentes, bem como sustentar o desenvolvimento de novas estratégias para a prevenção da aquisição de enfermidades à partir destes ambientes.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. A inter-relação homem-animal.

A inter-relação homem-animal pode ser considerada um binômio ancestral, cuja origem se remete há milhares de anos. Os animais sempre foram elementos integrantes do meio ambiente, sendo esta relação ligada, sobretudo à sua própria subsistência e sobrevivência. Contudo, a relação que era inicialmente apenas para obtenção de alimentos por meio da caça, sofreu mudanças. O aumento populacional, junto à evolução cultural, levou o homem a iniciar o processo de domesticação, no qual os animais e humanos passaram a coabitar-se intimamente. Este processo ocorreu cerca de 9 mil anos a.C. (Período Neolítico), no Próximo Oriente, período em que as bases econômicas se transformaram gradualmente, passando a existir agricultura e pastorícia e, conseqüentemente, uma sedentarização da população humana, anteriormente nômade (PEREIRA, 2014). Este convívio se perpetuou de tal forma, que é comum encontrar o ser humano em companhia animal, seja este mamífero, ave, réptil, anfíbio ou peixe, fato que favorece o crescimento do mercado “*pet*”. (ABREU, 2009).

Neste contexto, o ser humano se relaciona com o grupo das aves para diversas finalidades, sejam como animal de estimação, ou para a alimentação, vestuário, fabricação de travesseiros e artesanatos, entre outros. Estima-se que exista cerca de 10.000 espécies de aves conhecidas, sendo que 3.649 são amplamente utilizadas como animais de estimação, ampliando para 4.561 para outras utilidades antrópicas (BUTCHART, 2008).

A utilização da ave *pet* é uma prática extensamente difundida, principalmente espécies dóceis, atraentes e de fácil manejo. No interior do estado de São Paulo, encontram-se algumas espécies *pet*, extremamente populares, a saber: calopsita (*Nymphicus hollandicus*), canário (*Serinus canaria domesticus*), pássaro-do-amor (*Agapornis* spp) e periquito-australiano (*Melopsittacus undulatus*). O comércio destas aves representa um negócio lucrativo para os criadores e *pet shops*, uma vez que são comercializadas para diversas regiões do Brasil, tornando-se uma importante fonte de renda.

A criação e comercialização de aves é uma atividade regulamentada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Este órgão trouxe desde 1997 uma nova visão do conceito de reprodução e manutenção de aves, a partir

da qual, é possível que lojas de animais, cadastradas comercializem aves reproduzidas em criadouros devidamente registrados (ALLGAYER & CZIULIK, 2007).

Outras aves de expressão para fins comerciais, neste caso para alimentação, são os galináceos (*Gallus gallus domesticus*), nos quais se explora a produção de carne e ovos. De fato, desde o Século VII a.C, a galinha representa uma importante fonte de alimento e, atualmente, a avicultura brasileira responde a quase 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional. Tal prática, em especial ao interior do país, coloca o Brasil como o maior exportador de carne de frango do mundo (MENDES & PAZ, 2009; LOPES, 2011; UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA-UBABEF, 2014).

2.2. Breve histórico e características gerais das aves estudadas.

Para o presente estudo, foram selecionadas cinco aves, a saber:

2.2.1. Pássaro-do-amor (*Agapornis* spp)

Classe: Ave

Ordem: Psittaciformes

Família: Psittacidae

Subfamília: Psittacinae

Gênero: *Agapornis* (Selby, 1836)

Espécie: várias

Tamanho médio: 13-17 cm

Envergadura: 14 cm

Expectativa de vida: 10-12 anos

Origem: África



Figura 1 – Ilustração de Pássaro-do-amor

Agapornis sp. FONTE: Marcos Paulo.

Disponível em <<http://www.kawek.net/marcospaulo-105293>> Acesso em 20 mar. 2015

A etimologia no nome *Agapornis*, é de origem grega, sendo *Agape* (“amor”) e *Ornis* (“pássaro”), sendo pássaro-do-amor o nome popular mais frequentemente utilizado. Este termo vem do fato que em condições naturais, estas aves possuem o hábito de sempre viver em casais (BROICH, 2004). Existem nove espécies de *Agapornis*, a saber: *A. roseicollis*, *A. personata*, *A. fisheri*, *A. nigrigenis*, *A. lilianae*, *A. cana*, *A. taranta*, *A. pullaria*, *A. swindernia*, sendo as três primeiras mais populares em *pet shop* (FELIPINI, 2012).

Estas aves foram inicialmente descobertas no final do séc. XVIII, estabelecidas nos aviários europeus no séc. XIX e no Brasil à partir de 1990 (BROICH, 2004). Neste momento registra-se a importação de diversas espécies de *Agapornis sp*, que sustenta a boa oferta atual destas aves em diversos *pet shops* (FELIPINI, 2012).

2.2.2. Galinha (*Gallus gallus domesticus*)

Classe: Ave

Ordem: Galliformes

Família: Phasianidae

Subfamília: Phasianinae

Gênero: *Gallus*

Espécie: *Gallus gallus domesticus* (Brissom, 1760)

Origem: Ásia



Figura 2– Ilustração de Galo
Gallus gallus. FONTE: Science Store.
Disponível em <www.science-store.com> Acesso em 20 mar. 2015

A galinha (*Gallus gallus domesticus*), é uma ave encontrada em todos os continentes (BARBOSA et al., 2007), sendo considerada o animal doméstico mais difundido e abundante do planeta (FREITAS et al., 2011). No Brasil, acredita-se que a galinha foi introduzida pelos portugueses no início do século XVI, quando Cabral trouxe alguns exemplares e as deixou com os índios das terras recém-descobertas (FERREIRA, 2012).

As galinhas são uma importante fonte de alimento há séculos, fornecendo carne e ovos, com destaque a uma das mais baratas fontes de proteína. Acredita-se que a introdução desta ave como animal doméstico surgiu na Ásia, de onde é nativo o galo-banquiva (*Gallus gallus*) (FREITAS et al., 2011). Criadas frequentemente por pequenos produtores familiares nas áreas rurais, fornecendo segurança alimentar e rendimentos, são importantes espécies de exploração avícola em muitas áreas de quase todos os países no mundo (EEKEREN, 2006).

A Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA) apresenta dados de que, no Brasil, a avicultura emprega mais de 3,6 milhões de pessoas, direta e indiretamente, e responde por quase 1,5% do Produto Interno Bruto (PIB) nacional. Caracteriza-se como um setor representado por dezenas de milhares de produtores integrados, centenas de empresas

beneficiadoras e dezenas de empresas exportadoras, salientando sua importância socioeconômica (ABPA, 2014).

2.2.3. Periquito-australiano (*Melopsittacus undulatus*)

Classe: Ave

Ordem: Psittaciformes

Família: Psittacidae

Subfamília: Psittacinae

Gênero: *Melopsittacus*

Espécie: *Melopsittacus undulatus* (Shaw, 1805)

Tamanho médio: 17-25 cm

Envergadura: 18 cm

Expectativa de vida: 12-14 anos

Origem: Austrália



Figura 3 – Ilustração de Periquito Australiano
Melopsittacus undulatus. FONTE: Passarolândia.
Disponível em: <passarolandia.blogspot.com> Acesso em 20 mar. 2015

O Periquito-australiano (*Melopsittacus undulatus*) é atualmente considerado o pássaro mais popular no mundo (ABREU, 2009; BIRDS IN BACKYARDS, 2015a). O nome do gênero *Melopsittacus* é de origem grega, que significa "papagaio melodioso", e o nome específico, *undulatus*, é do latim, e pode ser traduzido como "ondulado" ou "ondas padronizadas".

John Gould, ornitólogo e naturalista inglês, em 1848, após expedição pela Austrália, levou consigo cerca de 70 espécies distintas de aves à Inglaterra, onde incidentalmente descobriu o periquito-australiano (*Melopsittacus undulatus*). Gould foi responsável pela divulgação das espécies de aves australianas, através da publicação do livro “*The birds of Australia*” (CASTELO-BRANCO, 2009). Desde o séc. XIX, a sua utilização, como animais de estimação, foi estabelecida devido às características de suportarem tal prática, como sua fácil domesticação e adaptação em gaiolas.

2.2.4. Calopsita (*Nymphicus hollandicus*)

Classe: Ave

Ordem: Psittaciformes

Família: Psittacidae

Subfamília: Cacatuinae

Gênero: *Nymphicus*

Espécie: *Nymphicus hollandicus* (Kerr, 1792)

Tamanho médio: 30 - 33 cm

Envergadura: 45 cm

Expectativa de vida: 20 anos

Origem: Austrália



Figura 4 – Ilustração de Calopsita *Nymphicus hollandicus*. FONTE: Saúde Animal. Disponível em: <www.saudeanimal.com.br> Acesso em 20 mar. 2015

A Calopsita (*Nymphicus hollandicus*) representa a menor espécie de cacatua existente, e a segunda mais popular ave de estimação do mundo (BRILHANTE et al., 2010). Atualmente, ainda é comum encontrá-la na natureza em sua região de origem, a Austrália. A etiologia do nome “*Nymphicus*” é em homenagem às ninfas da mitologia grega, e “*hollandicus*” à sua região de origem, Nova Holanda como era o nome dado ao continente australiano no seu período de colônia inglesa (SILVEIRA, 2012).

Desde o fim do século XIX, as calopsitas já se encontravam bem estabelecidas nos aviários europeus. Entretanto, sua grande disseminação ocorreu após metade do séc. XX, tendo foco inicial nos Estados Unidos (BIRDS IN BACKYARDS, 2015b; MATHIAS, 2008). No Brasil, desde 1998 a espécie é classificada pelo IBAMA como pertencente à fauna doméstica (CARVALHO et al., 2013).

2.2.5. Canário-do-reino (*Serinus canaria*)

O canário-do-reino (*Serinus canaria domesticus*), conhecido como canário belga ou canarinho é uma ave originária do arquipélago das Ilhas Canárias, Azores e Madeira (localizadas na costa africana do oceano Atlântico), sendo etimologia de seu nome procedente de sua origem (MARTINEZ, 2009).

Classe: Ave
 Ordem: Passeriforme
 Família: Fringillidae
 Subfamília: Carduelinae
 Gênero: *Serinus*
 Espécie *Serinus canaria domesticus* (Linnaeus, 1758)
 Tamanho médio: 14 cm
 Envergadura: 12 cm
 Expectativa de vida: 10 anos
 Origem: Ilhas Canárias



Figura 5 – Ilustração de Canário
Serinus canaria domesticus. FONTE: Saúde Animal.
 Disponível em <www.saudeanimal.com.br> Acesso em 20 mar. 2015

O histórico de criação desta espécie é datado há mais de cinco séculos, em que após a conquista das Ilhas Canárias no séc. XVI, iniciou-se a exportação para a Europa e América do Sul (ABREU, 2009; MARTINEZ, 2009). Ainda, é possível encontrar em seu hábitat natural, exemplares vivendo livremente (CANTONI, 2013).

A criação de canários até o final do século XIX era pouco difundida, vindo a se desenvolver na Alemanha, como o mais notável centro de canaricultura. São aves canoras, que possuem belíssimo canto e a facilidade de manejo, elementos que sustentam sua comercialização, sendo facilmente encontradas em *pet shops* (ABREU, 2009).

2.3. Caracterização das aves como veiculadores de microrganismos

A manutenção de aves selvagens ou exóticas em cativeiro é uma atividade bastante comum no Brasil, sendo os passeriformes e psitacíformes muito populares como animais de estimação (LUGARINI et al., 2008).

As excretas de aves de cativeiros ou de vida-livre representam uma fonte de contaminação microbiana, tanto dos ambientes domésticos, como públicos. De modo geral, as doenças zoonóticas comumente disseminadas por aves incluem clamidofilose, criptococose, salmonelose, tuberculose, campilobacteriose, doença Lyme, Influenza aviária, Febre do Nilo Ocidental, Bornavírus aviário, doença de Newcastle, toxoplasmose, giardose, criptosporidiose, entre outras (HUBÁLEK, 2004; BOSERET et al, 2013). A propagação de

microrganismos patogênicos é dependente de vários fatores bióticos e abióticos que afetam a sobrevivência microbiana no nicho ambiental (CAFARQUIA, 2006a; FOTI et al., 2011).

Alem de bactérias, parasitos e vírus, os fungos destacam-se como organismos prevalentes. Aos agentes fúngicos, as espécies de *Cryptococcus* são de grande evidência (NOSANCHUK, 2000; DECOSTERE et al., 2003; CASTELLÁ, 2008; EVANS, 2011; MOLTER et al., 2014).

2.4. Leveduras como parte da microbiota e fezes das aves

Sabe-se que, diversos agentes microbianos colonizam o trato gastrintestinal das aves e são encontradas nas fezes. Os gêneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* são frequentes neste nicho anatômico e, como consequência, de maior ocorrência nas doenças aviárias e humanas (MANCIANTI et al., 2001; BRILHANTE et al., 2010; MARINHO et al., 2010; FOTI et al., 2011;). A Tabela 1 apresenta uma revisão da literatura com os dados de pesquisas sobre microbiota em aves. Ainda que ocorra uma variação, observa-se uma maior ocorrência para *Candida* spp, microrganismos da microbiota do trato gastrintestinal com ampla distribuição.

A presença destes microrganismos nas fezes e sistemas orgânicos das aves permite-nos inferir o seu papel como reservatórios e disseminadores de fungos para o ambiente e outros animais, podendo caracterizar uma via de transmissão zoonótica (MORETTI et al., 2000; NOSANCHUK et al., 2000; MARTINO et al., 2002; SAMOUR & NALDO, 2002; MELVILLE et al., 2004; LAGROU et al., 2005; CASTELO-BRANCO, 2009).

Tabela 1 – Levantamento bibliográfico dos principais gêneros de leveduras isolados de aves.

Ave	Espécies identificadas	Tipo de material/coleta	Autor
Aves de sistema de produção	<i>Candida sp</i>	Swab superfície	Wells & Stademan, 1958
	<i>Cryptococcus sp</i>	Enviscerado	Walker & Ayres, 1959
	<i>Rhodorula sp</i>		
	<i>Torulopsis sp</i>		
	<i>Trichosporon sp</i>		
Columbiformes	<i>Candida sp</i>	Fezes	Emmons, 1955
	<i>Cryptococcus sp</i>	Swab de cloaca	Kocan & Hasenclever, 1972
	<i>Debaryomyces sp</i>	Swab oral	Ruiz & Bummer, 1981
	<i>Filobasidium sp</i>		Castalón- Olivares <i>et al.</i> , 1994
	<i>Geotrichum sp</i>		Casali <i>et al.</i> , 2003
	<i>Kloeckera sp</i>		Sriburee <i>et al.</i> , 2004
	<i>Malassezia sp</i>		Rosário <i>et al.</i> , 2005
	<i>Rhodotorula sp</i>		Pedroso <i>et al.</i> , 2006
	<i>Saccharomyces sp</i>		Andrade-Silva <i>et al.</i> , 2010
	<i>Stephanosculus sp</i>		Rosário <i>et al.</i> , 2010
	<i>Trichosporon sp</i>		Zarrin <i>et al.</i> , 2010
	<i>Torulopsis sp</i>		Chae <i>et al.</i> , 2012
			Mseddi <i>et al.</i> , 2012
			Wu <i>et al.</i> , 2012
			Tangwattanachuleeporn <i>et al.</i> , 2013
			Teodoro <i>et al.</i> , 2013
			Ferreira <i>et al.</i> , 2014

Tabela 1 – Levantamento bibliográfico dos principais gêneros de leveduras isolados de aves (continuação).

Aves Migratórias	<i>Aureobasidium sp</i>	Fezes	Kawakita & Van Uden, 1965
	<i>Candida sp</i>	Swab de cloaca	Cragg & Clayton, 1971
	<i>Cryptococcus sp</i>		Cafarchia <i>et al.</i> , 2006a
	<i>Debaryomyces sp</i>		Foti <i>et al.</i> , 2011
	<i>Hanseniaspora sp</i>		Hedayati <i>et al.</i> , 2011
	<i>Hansenula sp</i>		Francesca <i>et al.</i> , 2014
	<i>Metschnikowia sp</i>		
	<i>Pichia sp</i>		
	<i>Prototheca sp</i>		
	<i>Rhodotorula sp</i>		
	<i>Saccharomyces sp</i>		
	<i>Torulopsis sp</i>		
	<i>Trichosporon sp</i>		
Passeriformes e psitacíformes	<i>Candida sp</i>	Fezes	Criseo <i>et al.</i> , 1995
	<i>Cryptococcus sp</i>	Swab de cloaca	Macianti <i>et al.</i> , 2002
	<i>Debaromyces sp</i>	Swab oral	Abegg <i>et al.</i> , 2006
	<i>Geotrichum sp</i>		Lugarini <i>et al.</i> , 2008
	<i>Pichia sp</i>		Santos <i>et al.</i> , 2009
	<i>Rhodotorula sp</i>		Brilhante <i>et al.</i> , 2010
	<i>Saccharomyces sp</i>		Marinho <i>et al.</i> , 2010
	<i>Trichosporon sp</i>		Vlahović <i>et al.</i> , 2010
	<i>Zygosaccharomyces sp</i>		
Aves de cativeiro	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Fezes	Kielstein <i>et al.</i> , 2000
			Filiú <i>et al.</i> , 2002
Rapinantes	<i>Candida sp</i>	Fezes	Cafarchia <i>et al.</i> , 2006b
	<i>Cryptococcus sp</i>	Swab de cloaca	Brilhante <i>et al.</i> , 2012
	<i>Rhodotorula sp</i>	Swab oral	
	<i>Trichosporon sp</i>		

Tabela 1 – Levantamento bibliográfico dos principais gêneros de leveduras isolados de aves (continuação).

Aves aquáticas polares	<i>Candida sp</i>	Fezes	Chryssanthou <i>et al.</i> , 2011
	<i>Cryptococcus sp</i>	Swab de cloaca	Dynowska <i>et al.</i> , 2013
	<i>Debaryomyces sp</i>	Swab oral	
	<i>Dipodascus sp</i>		
	<i>Dipodascopsis sp</i>		
	<i>Exophiala sp</i>		
	<i>Kloeckera sp</i>		
	<i>Geotrichum sp</i>		
	<i>Pichia sp</i>		
	<i>Rhodotorula sp</i>		
	<i>Saccharomyces sp</i>		
	<i>Trichosporon sp</i>		
Emas (<i>Rhea americana</i>)	<i>Candida sp</i>	Fezes	Brilhante <i>et al.</i> , 2013
		Swab de cloaca	
		Swab oral	
Aves Selvagens	<i>Candida sp</i>	Fezes	Lord <i>et al.</i> , 2010
	<i>Citeromyces sp</i>	Swab de cloaca	Mendes <i>et al.</i> , 2014
	<i>Cryptococcus sp</i>	Swab oral	Dynowska <i>et al.</i> , 2015
	<i>Geotrichum sp</i>		
	<i>Malassezia sp</i>		
	<i>Pichia sp</i>		
	<i>Rhodotorula sp</i>		
	<i>Saccharomyces sp</i>		
	<i>Saccharomycopsis sp</i>		
	<i>Trichosporon</i>		

2.5. Potencial patogênico de leveduras isoladas de aves

Os avanços e descobertas no controle e tratamento de doenças bacterianas e virais de aves foram notáveis na última década. Em contrapartida, pouco progresso foi alcançado no controle de infecções fúngicas, apesar de seu alto impacto sobre a saúde animal e humana (MORETTI et al., 2000).

A condição de imunossupressão ou não, aliada ao quadro de colonização fúngica prévia é fator predisponente para estabelecimento de doenças. De origem do trato gastrointestinal, a propagação oro-fecal pode levar microrganismos, patógenos primários ou não, para outros animais ou humanos, a partir de nichos ambientais (MORETTI et al., 2000; MARTINO et al., 2002; SAMOUR & NALDO, 2002; MELVILLE et al., 2004; CASTELO-BRANCO, 2009).

Microrganismos presentes nas fezes de aves, já foram comprovados como fonte infecção em humanos. Os dois casos descritos na literatura são de aves de estimação, animais coabitante do homem, a saber: a) Mulher idosa, imunocomprometida, diagnosticada com meningite por *C. neoformans* teve comprovação de um isolado clonal recuperado a partir das fezes de uma cacatua saudável, com a qual convivia há sete anos. A suspeita da infecção se deu por meio de aerózois, pois a paciente não esteve diretamente envolvida no manejo ou na limpeza da gaiola da ave (NOSANCHUK et al., 2000); b) mulher adulta, imunocompetente diagnosticada com meningite criptocócica após a exposição a uma pega (uma ave da família Corvidae) mantida como um animal de estimação na casa de seus pais. A cultura das fezes da pega foi positiva para *C. neoformans*. Novamente, ao inquérito epidemiológico, acreditou-se que a infecção ocorreu por inalação, pois a paciente conviveu na casa com a ave por três meses (LAGROU et al; 2005).

As infecções fúngicas em aves, de modo geral, constituem um grave problema nos aviários, especialmente em granjas de avicultura. Estes habitats normalmente apresentam condições de propagação (clima úmido, alta densidade de indivíduos, inadequação do saneamento dos utensílios alimentares, terapia antibacteriana prolongada), concomitantes às condições predisponentes dos animais, como a

hipovitaminose A e/ou deficiências imunológicas, geralmente relacionadas ao estresse (NOURI & KAMYABI, 2010).

As diversas espécies de *Candida* são consideradas parte da microbiota normal das aves, entretanto, vem sendo descritas como agentes infecciosos, principalmente a da espécie *Candida albicans*, coincidindo com as infecções humanas. Em graves surtos, é o agente etiológico predominante de doenças severas, devido à sua capacidade de invadir tecidos, especialmente o trato gastrointestinal superior – TGS (orofaringe, inglúvio e esôfago). Este fato contribui à suscetibilidade do grupo das aves, corroborando os casos em galináceos (como galinhas, perus, codornas), passeriformes (pássaro-ponto), psitacíformes (entre aratingas, calopsitas, papagaios, periquitos australianos e cacatuas) e rapinantes (águias, falcões) (MORETTI et al., 2000; MARTINO et al., 2002; SAMOUR & NALDO, 2002; MELVILLE et al., 2004; RIPPON et al., 2010; SHRUBSOLE-COCKWILL et al., 2010; QUIST et al., 2011; PROENÇA et al., 2014).

No homem, as mais frequentes espécies com manifestações clínicas são devidas à *C. albicans* (predominantes em todo o mundo), *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (na América Latina) e *C. glabrata* (nos EUA) (DEL-PALACIO et al., 2009).

As espécies de *Candida* não-*albicans* como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* e *C. rugosa* ganham o cenário na etiologia de doenças fúngicas em humanos, com relatos em animais (BRITO et al., 2009; DING et al., 2014; MORETTI et al., 2000; SAMOUR & NALDO, 2002). A maioria dos casos tem origem endógena, quando os indivíduos são predispostos ao crescimento excessivo da microbiota (BARBOSA et al., 2012; DE-ROSA et al., 2013; JÚNIOR et al., 2011; KWAMIN et al., 2012; NOURAEI et al., 2012; PEDROSO et al., 2014; QUIST et al., 2011; SARDI et al., 2013; VELASCO et al., 2000)

O gênero *Cryptococcus* comporta mais de 38 espécies, duas das quais são consideradas potencialmente patogênicas para humanos e animais: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gatti*, o primeiro relevante em indivíduos imunocomprometidos e o segundo, imunocompetentes (KON et al., 2008; QUEIROZ, 2008; LESTER et al., 2011; MCMULLAN et al., 2013).

Por muito tempo a espécie *Cryptococcus gattii* foi estritamente associada à espécies de eucaliptos e as infecções em regiões de climas tropicais e subtropicais (ELLIS & PFEILLER, 1990). Entretanto, outras fontes ambientais desta espécie foram comprovadas, onde se pode recuperar a partir de mais de 50 espécies vegetais no mundo, incluindo espécies de árvores nativas brasileiras (LAZERA et al., 2000; HARRIS et al., 2012).

Já a espécie *C. neoformans* no ambiente é principalmente encontrado em excretas de aves, especialmente de pombos (*Columba livia*). O ecossistema urbano tem se tornado propício para permanência destas aves, em que com o acúmulo de excretas, torna como a fonte de infecção mais importante para homens e animais (FARIA et al., 2010). Vale ressaltar que a fonte de *Cryptococcus* spp não se restringe somente aos ambientes dos pombos, tendo em vista outras possíveis fontes de transmissão zoonótica, a saber: canário, caturra etc. (CRISEO et al., 1995; FILIÚ et al., 2002; KIELSTEIN et al., 2000; LAGROU et al., 2005; LUGARINI et al., 2008; NOSANCHUK et al., 2000; SHRESTHA et al., 2004).

Espécies de *Cryptococcus* não-*neoformans* e não-*gattii* emergem no cenário de infecções, de acordo com a revisão bibliográfica de 50 casos humanos (Tabela 2) e 14 em animais (Tabela 3).

Tabela 2 – Levantamento bibliográfico de infecções por espécies de *Cryptococcus* não-*neoformans* e não-*gatti* em humanos.

Autor/Ano	País	Hospedeiro	Condição	Espécies de <i>Cryptococcus</i> não- <i>neoformans</i>			
				<i>C. adeliensis</i>	<i>C. albidus</i>	<i>C. laurentii</i>	<i>C. uniguttulatus</i>
		Humano	Sintomas				
KRUMHOLZ, R.A. (1972)	EUA	68 anos - M	Infecção Pulmonar		*		
DA CUNHA & LUSINS (1973)	EUA	45 anos - M	Infecção SNC ^a		*		
KAMALAM <i>et al.</i> (1977)	Reino Unido	40 anos - M	Infecção cutânea				*
MELO <i>et al.</i> (1980)	EUA	29 anos - M	Meningite		*		
LYNCH <i>et al.</i> (1981)	EUA	55 anos - F	Abcesso pulmonar				*
WINN <i>et al.</i> (1985)	EUA	37 anos - M	Pneumonia				*
GLUCK <i>et al.</i> (1987)	EUA	65 anos - F	Criptococose		*		
LIN <i>et al.</i> (1989)	Taiwan	45 anos - F	Infecção cutânea		*		
SINNOTT <i>et al.</i> (1989)	EUA	13 anos - F	Peritonite				*
MOCAN <i>et al.</i> (1989)	Reino Unido	14 anos - F	Peritonite				*
KRAJDEN <i>et al.</i> (1991)	Canadá	54 anos - F	Infecção pulmonar				*
KRAJDEN <i>et al.</i> (1991) ^b	EUA	37 anos - M	Infecção pulmonar				*
HOROWITZ <i>et al.</i> (1993)	EUA	37 anos - M	Infecção Fluído Pleural		*		
CUSTIS <i>et al.</i> (1995)	EUA	61 anos - F	Endofítalmite				*
LOISON <i>et al.</i> (1996)	França	38 anos - M	Septicemia		*		
KRCMERY <i>et al.</i> (1997)	Eslováquia	17 anos - M	Fungemia				*
RITTERBAND <i>et al.</i> (1998)	EUA	51 anos - M	Ceratite				*
JOHNSON <i>et al.</i> (1998)	EUA	Prematuro - M	Fungemia				*
JOHNSON <i>et al.</i> (1998)	EUA	27 anos - F	Fungemia				*
KORDOSSIS <i>et al.</i> (1998)	Grécia	34 anos - M	Meningite				*
WELLS <i>et al.</i> (1998)	EUA	4 anos - F	Fungemia		*		
KUNOVA & KRCMERY (1999)	Eslováquia	26 anos - M	Fungemia				*
KUNOVA & KRCMERY (1999) ^b	Eslováquia	50 anos - M	Fungemia				*
KUNOVA & KRCMERY (1999) ^c	Eslováquia	57 anos - M	Fungemia				*
NARAYAN <i>et al.</i> (2000)	Reino Unido	70 anos - M	Infecção cutânea		*		
CHENG <i>et al.</i> (2001)	Taiwan	Prematuro - M	Fungemia				*
KIERTIBURANAKUL <i>et al.</i> (2001)	Tailândia	18 anos - F	Fungemia				*

Tabela 2 – Levantamento bibliográfico de infecções por espécies de *Cryptococcus* não-*neoformans* e não-*gatti* em humanos (continuação).

Autor/Ano	País	Hospedeiro	Condição	Espécies de <i>Cryptococcus</i> não- <i>neoformans</i>			
				<i>C. adeliensis</i>	<i>C. albidus</i>	<i>C. laurentii</i>	<i>C. uniguttulatus</i>
MCCURDY <i>et al.</i> (2001)	EUA	65 anos - F	Ventriculite				*
AVERBUCH <i>et al.</i> (2002)	Israel	anos -	Ganglioneuroblastoma			*	
LEE <i>et al.</i> (2004)	Coréia	23 anos - M	Infecção respiratória		*		
GARELICK <i>et al.</i> (2004)	EUA	16 anos - F	Ulceração escleral		*		
RAMCHANDREN <i>et al.</i> (2004)	EUA	51 anos - M	Fungemia		*		
RIMEK <i>et al.</i> (2004)	Alemanha	40 anos - F	Meningite	*			
VLCHKOVA-LASHKOSKA <i>et al.</i> (2004)	Macedônia	51 anos - M	Infecção cutânea			*	
DE CASTRO <i>et al.</i> (2005)	EUA	69 anos - F	Ceratite		*		
SIMON <i>et al.</i> (2005)	Hungria	9 anos - M	Fungemia			*	
MANFREDI <i>et al.</i> (2006)	Itália	34 anos - M	Meningoencefalite			*	
SHANKAR <i>et al.</i> (2006)	Índia	35 anos - F	Criptococose pulmonar			*	
KHAWCHAROENPORN <i>et al.</i> (2006)	EUA	35 anos - M	Meningoencefalite			*	
BURNIK <i>et al.</i> (2007)	Turquia	55 anos - M	Pneumonia		*		
HOANG <i>et al.</i> (2007)	EUA	14 anos - M	Infecção cutânea		*		
FURMAN-KUKLIŃSKA <i>et al.</i> (2009)	Polônia	39 anos - M	Glomerulonefrite membranoproliferativa			*	
CLEVELAND <i>et al.</i> (2012)	EUA	44 anos - M	Infecção pulmonar		*		
RODRIGUEZ <i>et al.</i> (2012)	Colômbia	0,4 anos - M	Fungemia			*	
KULKARNI <i>et al.</i> (2012)	Índia	55 anos - M	Infecção cutânea			*	
BANERJEE <i>et al.</i> (2013)	Índia	76 anos - M	Infecção pulmonar			*	
MOLINA-LEYVA <i>et al.</i> (2013)	Espanha	8 anos - F	Infecção cutânea			*	
LIU <i>et al.</i> (2014)	China	28 anos - M	Encefalite		*		
CONTI <i>et al.</i> (2014)	Itália	74 anos - M	Neutropenia e diarreia			*	
CALISTA <i>et al.</i> (2015)	Itália	47 anos - M	Pneumonia			*	

a - SNC: Sistema Nervoso Central

Tabela 3 – Levantamento bibliográfico de infecções por espécies de *Cryptococcus* não-*neoformans* e não-*gatti* em animais.

Autor/Ano	País	Hospedeiro	Condição	Espécies de <i>Cryptococcus</i> não- <i>neoformans</i>			
		Animal	Sintomas	<i>C. albidus</i>	<i>C. laurentii</i>	<i>C. magnus</i>	<i>C. uniguttulatus</i>
CODAZZA <i>et al.</i> (1973)	Itália	Cavalo	Infecção genital	*			
DESBROSSE <i>et al.</i> (1996)	França	Cavalos	Ceratite micótica	*			
BERNARDO <i>et al.</i> (1998)	Portugal	Cão	Otite micótica externa		*		
MARTINS <i>et al.</i> (2002)	Portugal	Golfinho	Infecção respiratória		*		
DECOSTERE <i>et al.</i> (2003)	Bélgica	Estorninho (Ave)	Perda de penas		*		
KANO <i>et al.</i> (2004)	Japão	Gato	Otite externa				*
LABRECQUE & MESSIER (2005)	Canadá	Cão	Infecção na pata	*			
KANO <i>et al.</i> (2008)	Japão	Gato	Infecção sistêmica	*			
CAMPOS <i>et al.</i> (2009)	Brasil	Cão	Infecção SNC ^a		*		
ZUCCARI <i>et al.</i> (2010)	Brasil	Cão	Infecção respiratória		*		
TURKYLMAZ & KAYNARCA (2010)	Alemanha	Vaca	Mastite subclínica		*		
POTH <i>et al.</i> (2010)	Alemanha	Gato	Infecção da pata				*
MADRID <i>et al.</i> (2011)	Brasil	Cão	Infecção Cavidade nasal	*			
MCLELAND <i>et al.</i> (2012)	Canadá	Leão-marinho	Infecção respiratória	*			

a - SNC: Sistema Nervoso Central

O gênero *Trichosporon* comporta leveduras que são amplamente distribuídas no solo, vegetação, água e no homem, podem ser parte microbiota normal da pele e vias respiratórias (BAKA, 2013; MICELI & LEE, 2011). São agentes causadores de infecções cutâneas e estão envolvidos em micoses sistêmicas, localizadas ou disseminadas, especialmente em indivíduos com algum grau de comprometimento imunológico, como pacientes com neoplasias hematológicas subjacentes, AIDS, queimaduras e tumores sólidos (BAKA et al., 2013; MONTROYA et al., 2015). Nove espécies têm o potencial de causar doenças no homem, a saber: *Trichosporon asahii* (causa mais comum em infecções invasivas disseminadas), *Trichosporon inkin* (agente etiológico da *piedra* branca), *Trichosporon asteroides*, *Trichosporon cutaneum*, *Trichosporon mucoides*, *Trichosporon ovoides*, *Trichosporon pullulans* e mais recentemente, *Trichosporon loubieri* e *Trichosporon japonicum* (MICELI & LEE, 2011).

Valorizada a ocorrência em animal, em calopsita, Gartrell e colaboradores (2005) relataram a um caso de dermatite, relacionada à presença de *T. asahii*, tendo como fator predisponente a hipovitaminose A.

Espécies de *Rhodotorula* têm sido tradicionalmente consideradas como leveduras não patogênicas. São leveduras saprófitas ubíquas que podem ser isoladas a partir de muitas fontes ambientais, como em alimentos e bebidas (WIRTH & GOLDANI, 2012). Entretanto, nas últimas décadas, tem emergido como um patógeno oportunista, especialmente em hospedeiros imunocomprometidos (KIM et al., 2013). O gênero inclui oito espécies, sendo que apenas três *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula glutinis* e *Rhodotorula minuta* são conhecidas como causa de doenças em humanos (MENON et al., 2014). Deve-se a sua etiologia: meningite, endocardite, ventriculites, peritonite, fungemia, ceratite (MENON et al., 2014), onicomiose (ZHOU et al., 2014), pacientes com cateter intravenoso (KIM et al., 2013), com tumores sólidos, insuficiência renal crônica, doença linfoproliferativa e síndrome da imunodeficiência adquirida (SPILIOPOULOU et al., 2012).

Sob atribuição ao gênero *Rhodotorula*, em animais, constituem eventos comuns: dermatite necrosante em galinhas poedeiras (ARUO et al., 1980), e em frangos

(BEEMER et al., 1970); epidermite granulomatosa em cão (KADOTA et al., 1995), lesões cutâneas em leão-marinho-do-sul (ALVAREZ-PEREZ et al., 2010).

2.6. Perfil de suscetibilidade antifúngica

No mercado existem cinco classes de drogas antifúngicas disponíveis (polienos, fluoropirimidinas, azóis, equinocandinas e alilaminas), todas elas com algum ponto de desvantagem: limitado número de agentes antifúngicos disponíveis, drogas com baixo espectro de ação, não seletividade para fungo e efeito unicamente fungistático, além de, em condições específicas, induzirem o surgimento de cepas resistentes (BECK-SAGUE & JARVIS 1993; REX et al., 2000; CHEN et al., 2007).

A resistência antifúngica refere-se à capacidade do fungo crescer na presença de um agente antifúngico. Na resistência *in vitro*, o fungo ultrapassa o ponto crítico do valor de concentração inibitória mínima (MIC) de droga, no qual era esperado ser suscetível. Na resistência *in vivo*, define-se como a incapacidade de erradicar uma infecção fúngica, apesar da administração de um agente antifúngico, ora efetivo ou não, frente às análises *in vitro* (KANAFANI & PERFECT, 2008).

Em fungos, a resistência primária ocorre para algumas espécies de *Candida*, como *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. lusitaniae* frente aos compostos azólicos e Anfotericina B. Já, a resistência secundária se desenvolve entre as cepas anteriormente suscetíveis, que após a exposição ao agente anti-fúngico, modifica o perfil fenotípico para resistência (HOSPENTHAL et al., 2004; KANAFANI; PERFECT, 2008).

O surgimento de microrganismos resistentes aos antimicrobianos é um importante problema de saúde pública, especialmente em hospitais e outras instituições de saúde. Na produção animal são utilizados agentes antimicrobianos, como aditivos ou promotores de crescimento na ração, bem como na prevenção ou tratamento de doenças específicas. Seu uso garantiu os altos índices de produtividade obtidos nas últimas décadas, redução da mortalidade e morbidade, e a manutenção do bem-estar animal. No entanto, o uso destes antimicrobianos, como preventivo às doenças infecciosas, pode contribuir na seleção de resistência (MENDES, 2013).

Durante os últimos anos, foram realizados diversos trabalhos no monitoramento do perfil de suscetibilidade às drogas, particularmente com leveduras isoladas de amostras clínicas humanas e animais (PINTO et al., 2008; BRITO et al., 2009; BOURGEOIS et al., 2010; FAVALESSA et al., 2010; SELLAMI et al., 2011; JIANG et al., 2013; MENEZES et al., 2013; BRILHANTE et al., 2015; MONTOYA et al., 2015). Neste sentido, em Fortaleza, Sidrim et al. (2010) reporta o isolamento de leveduras à partir do sistema gastrointestinal de calopsitas, com perfil de suscetibilidade variável aos azólicos, especialmente com tendência a resistência.

Costa e colaboradores (2010); Andrade-Silva e colaboradores (2012); e Ferreira-Paim e colaboradores (2012) observaram em estudo com *Cryptococcus* spp isolados de fezes de aves, a ocorrência de resistência ao azólicos e/ou anfotericina B.

Novamente, foi obtida a confirmação do fenótipo de resistência ao Itraconazol e ao Fluconazol a partir de leveduras isoladas de aves de rapina e emas (BRILHANTE et al., 2012; 2013).

Estudos realizados no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP), evidenciam em fezes de galinhas de corte (REIS et al., 2012), poedeiras (ALMEIDA et al., 2011) e canários (REIS et al., 2013), leveduras dos gêneros: *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Rhodotorula* e *Zygosaccharomyces* com perfil de resistência ou sensibilidade dose dependente aos antifúngicos azólicos. Deste modo, se desperta uma preocupação, o fato de uma possível fonte de contaminação ambiental com leveduras patogênicas, que apresentam um fenômeno de resistência *in vitro*, diante antifúngicos rotineiramente utilizados na prática clínica, como o fluconazol e o itraconazol.

2.7. Epidemiologia molecular: perfil genotípico

É de grande complexidade a epidemiologia dos fungos, em que os estudos pioneiros propuseram a análise fenotípica sem grande poder de definição. Nos últimos anos, grandes avanços na tipagem molecular de microrganismos permitem o melhor entendimento da dinâmica do organismo infectante na população humana,

estabelecendo critérios em relacionamentos complexos de comensalismo ou infecção, compreendendo os mecanismos genéticos e evolucionários, identificando a origem da infecção ou monitorando a emergência de cepas resistentes (MANFREDI et al., 2006; SPESSO et al., 2013).

Deste modo, o conhecimento dos padrões genéticos dos microrganismos abre novas possibilidades nos campos da sistemática e do diagnóstico. A tecnologia da Reação de cadeia da polimerase (PCR) permite o desenvolvimento de estudos com biologia molecular para diversas aplicabilidades. Desse modo, as diferenças genéticas intra e interespecíficas têm sido detectadas por diversos métodos de tipagem molecular, como o RAPD (*Random Amplified Polimorfism DNA*), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorfism*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorfism*) e PCR-*Fingerprinting* (PEDROSO, 2008). Assim, as técnicas baseadas em PCR tornam-se uma boa alternativa, mostrando-se mais sensíveis, específicas e rápidas, se comparadas aos métodos tradicionais baseados em fatores fenotípicos (LIBIKIND et al., 2003; MEYER et al., 1993). No entanto, estes métodos necessitam de um trabalho laborioso e são ainda relativamente caros (LIBIKIND et al., 2003; ANDRADE et al., 2006; PEREIRA et al., 2014).

Microsatélites e minisatélites, também conhecidos como “*simple sequence satellites*” ou “*short tandem repeats*”, consistem de sequências curtas repetidas de DNA, sem consenso entre autores, sobre a definição do tamanho das mesmas (RICHARD et al., 2008).

Os genomas eucarióticos possuem grande quantidade de sequências repetitivas de DNA. Os *loci* microsatélites são frequentemente hipervariáveis, o que os torna ferramentas ideais para a identificação molecular e diferenciação de indivíduos, por meio de PCR - DNA polimórfico amplificado aleatoriamente (RAPD) (WILLIAMS et al., 1990). A técnica de RAPD não exige o conhecimento da sequência do molde de DNA. O *primer*, originário do fago M13, é a sequência, no qual leva aos perfis eletroforéticos altamente reprodutíveis, e mostra variações interespecíficas e intraespecíficas, com ampla utilização em RAPD-PCR (MEYER et al., 1993;

LATOUCHE et al., 1997; LIBKIND et al., 2003; WALCZAK et al., 2007; PEREIRA et al., 2014).

A análise RAPD-PCR com microsatélite ou também conhecida como PCR-*fingerprinting* (MSP-PCR), tem sido utilizada para a diferenciação de: a) cepas clínicas (PINI et al., 2005; DA-SILVA-ROCHA et al., 2014); b) cepas de origem alimentar (PRILLINGER et al., 1999; ANDRIGHETTO et al., 2000; ANDRADE et al., 2006; VALMORRI et al., 2010); c) cepas ambientais (LIBKIND et al., 2003; ABEGG et al., 2006; RIBEIRO & NGAMSKULRUNGROJ, 2008; FERREIRA-PAIM et al., 2012; DANESI et al., 2014); bem como a diferenciação e determinação de espécies leveduriformes, como cepas de *Saccharomyces cerevisiae* (PRILLINGER et al., 1999; XUFRE et al., 2000), *Hanseniaspora* / *Kloeckera* sp. (CARUSO et al., 2002; CADEZ et al., 2002), *Yarrowia lipolytica* (ANDRIGHETTO et al., 2000; DEAK et al., 2000; GUERZONI et al., 2001); *Sporobolomyces odoratus* / *S. ruineniae* (VALÉRIO et al., 2002); *Candida sake* (WALCZAK et al., 2007), *Wickerhamomyces sylviae* (FRANCESCA et al., 2013).

Todas as abordagens práticas acima citadas devem seguir protocolos passíveis de alteração pelo usuário, conforme as particularidades do seu trabalho e necessitam do máximo de critério para a execução.

RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

3. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

Considerando a popularidade das aves de estimação e de fins comerciais, o seu papel como fonte de disseminação de leveduras patogênicas, e/ou resistentes aos antifúngicos, expõe o homem ou outros animais a risco de doenças infecciosas. Portanto, o estudo que propõe a análise de distribuição e monitoramento desses microrganismos quanto à suscetibilidade antimicrobiana, bem como dos perfis genéticos associados, é relevante.

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral:

Isolar, identificar e caracterizar o fenótipo e o genótipo de leveduras obtidas de fezes de aves de cativeiro.

4.2. Objetivos específicos:

- Isolar e identificar as leveduras presentes em fezes de cinco espécies de aves: *Agapornis sp*, *G. gallus*, *M. undulatus*, *N. hollandicus* e *S. canaria*;
- Identificar o perfil fenotípico de suscetibilidade antimicrobiana pelo método de disco-difusão e microdiluição, frente aos antifúngicos: poliênico Anfotericina B e azólicos Cetoconazol, Fluconazol e Itraconazol;
- Identificar o perfil molecular dos isolados prevalentes em relação à ave por PCR-*fingerpriting*, técnica de micro-satélite (MSP-PCR);
- Comparar os perfis genéticos com o fenótipo de suscetibilidade antifúngica.

MATERIAL E MÉTODOS

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Seleção e coletas das amostras

De março de 2011 a maio de 2014, foram coletadas amostras de fezes de aves (1-5 gramas) presentes no chão e superfícies de poleiros, viveiros, galpões e criatórios. As amostras foram acondicionadas em recipientes estéreis hermeticamente fechados, transferidas em caixas isotérmicas e encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP para os estudos micológicos.

Para galinhas (*Gallus gallus domesticus*), foram selecionadas granjas de sete cidades diferentes, a saber: Água Clara – MS, Itagipe – MG, Uberlândia – MG, Nova Aliança – SP, São José do Rio Preto – SP, Palestina – SP e Paulo de Faria – SP.

Para as demais aves, foram selecionadas amostras de cativeiros, incluindo criatórios e *pet shop*, provenientes de três cidades do noroeste paulista, a saber: Neves Paulista – SP, Bálsamo – SP e São José do Rio Preto – SP.

5.2. Número de amostras

No total, 247 amostras foram coletadas seguindo a distribuição: 83 de galinhas, 44 de calopsitas e 40 para cada uma das demais aves (canário, pássaro-do-amor e periquito-australino)

5.3. Análise Micológica

Para isolamento e identificação micológica das espécies fungicas, seguiram-se os protocolos descritos por De Hoog (2000) e Filiú e cols. (2002) com modificações. Para cada amostra, foram utilizados dois meios de cultura para o isolamento primário: Agar Sabouraud Dextrose (Oxoid) e ágar semente de níger (*Guizotia abyssinica*). Para cada grama do material, adicionou-se 10 ml de solução salina (NaCl 0,9%), contendo cloranfenicol (0,4 g / L). A suspensão foi homogeneizada em vórtex, durante três

minutos, e foi deixada a decantar durante 30 minutos, a temperatura ambiente. Em seguida, alíquotas de 100 µl do sobrenadante de cada amostra foram aspiradas e semeadas com auxílio de alça de Drigalski em ambos os meios. Foram também semeadas diluições de 10^{-1} e 10^{-2} . As placas foram incubadas à 30 °C, por 10 dias, e observadas diariamente.

5.4. Identificação

Em cada amostra positiva, as colônias foram observadas ao microscópio e isoladas para identificação da espécie, valorizando os parâmetros bioquímicos (hidrólise da uréia e assimilação de hidratos de Carbono e Nitrogênio), como descrito por De Hoog (2000). Utilizou-se de modo complementar o meio Chromagar *Candida* (Himedia®, Índia).

Cryptococcus spp. foram inicialmente identificados macroscopicamente, com base na produção de fenol-oxidase (coloração marrom) em Ágar Níger e pelo aspecto mucóide das colônias. Posteriormente foram confeccionadas lâminas coradas por Tinta da China para verificar a presença de cápsula polissacarídica. Teste de produção de urease e de assimilação de hidratos de Carbono e Nitrogênio seguiram de acordo com protocolo descrito por De Hoog (2000). Meio de CGB – *canavine-glycine-bromothymol blue* foi utilizado com objetivo de diferenciar *Cryptococcus gatti* e *Cryptococcus neoformans*.

Microrganismos que não apresentaram padrões de identificação morfológica ou bioquímica compatíveis foram submetidos a identificação pelo método comercial ID32C® (BioMérieux®, França).

5.5. Testes de suscetibilidade antimicrobiana

5.5.1. Antifungigrama por Difusão em Disco

Após a identificação e isolamento do microrganismo, cada espécime foi submetido ao teste de disco-difusão em ágar. O teste foi realizado de acordo com a metodologia descrita no documento M44-A (CLSI, 2004) e pelo fabricante do “kit” (CECON®, Brasil). Foram utilizados quatro grupos de discos de papel de filtro contendo, separadamente, 100 mcg de Anfotericina B, 50 mcg de Cetoconazol, 25mcg de Fluconazol, 10 mcg de Itraconazol e placas de Petri (90 mm de diâmetro) contendo ágar Mueller-Hinton (Difco®, Grã-Bretanha) a uma profundidade de 4,0 mm. Cada isolado e controles - *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *Candida albicans* ATCC 90028 - foram subcultivados em placas com ágar Sabouraud Dextrose (Oxoid®, Grã-Bretanha) com incubação a temperatura de 35-37 °C por 24 horas. Após crescimento, colônias foram suspensas em 5 mL de solução salina estéril (0,9 %) com turbidez ajustada à escala 0,5 de McFarland e em espectrofotômetro, utilizando um comprimento de onda de 530 nm. A suspensão de leveduras foi inoculada com *swab* estéril sobre a superfície do ágar Mueller-Hinton. Os discos de Anfotericina B, Cetoconazol, Fluconazol e Itraconazol foram depositados, assepticamente, sobre o ágar inoculado e a placa foi incubada aerobicamente a temperatura de 30-35 °C por 24-48 h. O diâmetro da zona de inibição foi medido para a determinação da susceptibilidade. Os critérios interpretativos do teste de disco-difusão para Anfotericina B, Cetoconazol, Fluconazol e Itraconazol seguiram pela determinação do fabricante (CECON®, Brasil): anfotericina B: sensível (S): >10 mm, resistente (R): ≤10mm; cetoconazol: (S): >20 mm, Dose-dependente (DD): 20-10 mm, (R): < 10 mm; fluconazol: (S): >19mm, (DD): 19-14 mm, (R): <14 mm; itraconazol: (S): ≥20 mm, intermediário; (DD): 19-12 mm, (R): ≤11 mm.

5.5.2. Antifungigrama por Microdiluição

Os microrganismos, identificados com resistência ou resistência intermediária pelo método de disco-difusão, foram reavaliados pelo método de microdiluição em caldo - documento M27-A3 pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). Além dos isolados, foram incluídas em cada ensaio, as leveduras *C. parapsilosis* ATCC 22019 e *C. albicans* ATCC 90028, como referência padrão. Para tal, foi utilizado o meio líquido RPMI-1640 (Sigma®, Estados Unidos) tamponado com ácido

morfopropileno sulfônico (MOPS; Sigma) e glicose 2% (modificação do documento M27-A3, com base no *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST*, 2012, ajustando-se o pH em 7,0 com ácido clorídrico. A padronização dos inóculos foi realizada utilizando previamente a escala 0,5 de Mac Farland e ajustada em 90% de transmitância em espectrofotômetro (Biospectro), em comprimento de onda de 530 nm. Foram utilizados os antifúngicos, Anfotericina B (Sigma®, Estados Unidos), Cetoconazol (Janssen Pharmaceutica®, Bélgica), Fluconazol (Pfizer®, Estados Unidos) e Itraconazol (Janssen Pharmaceutica®, Bélgica), cujas concentrações variaram de 0,125 a 64 µg/ml para o Fluconazol e de 0,03 a 16 µg/ml para Itraconazol, Cetoconazol e Anfotericina B. Microplacas estéreis com 96 poços (cralplast) foram inoculadas com dez concentrações de cada antifúngico, colocadas em sentido vertical na placa, nas colunas de 2 a 11. As colunas 1 e 12 foram utilizadas como controle (1 esterilidade e 12, crescimento). O inóculo foi dispensado na quantidade de 100 µl, nas colunas de 2 a 12. As placas foram agitadas em agitador de Micro Placas MA 562 e incubadas em estufa úmida a 35°C por 24 horas.

Os critérios de corte para definição de sensível, sensível dose-dependente e resistência, foram considerados segundo o documento M27-A3 padronizado em 2008 pelo CLSI (Tabela 4).

Tabela 4 – Valores de ponto de corte sugeridos para interpretação de teste de suscetibilidade de leveduras.

Suscetibilidade	Antifúngicos – CIM (µg/ml)			
	Fluconazol	Itraconazol	Cetoconazol	Anfotericina B*
Sensível	≤8	≤0,125	≤0,125	≤1
SDD	16-32	0,25-0,5	0,25-0,5	-
Resistente	≥64	≥1	≥1	>1

SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

µg/ml: micrograma por mililitro

≤: menor ou igual a

≥: maior ou igual a

*Anfotericina B não possui pontos de corte pelo documento CLSI (2008). Foi utilizado o critério de suscetibilidade segundo o estudo de Colombo (2010).

5.6. Análise Molecular

Os isolados com número mais expressivo, das quatro espécies de leveduras isoladas (*Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis* e *Rhodotorula mucilaginosa*), previamente identificadas por métodos fenotípicos, foram submetidos à análise molecular pela técnica de PCR-*fingerprinting*. Como grupo externo, foi utilizado um isolado de *Candida tropicalis* (ATCC 13803), para construção dos dendogramas de *C. albicans*, *C. guilliermondii* e *R. mucilaginosa*.

5.6.1. Extração do DNA

Uma colônia de cada levedura isolada das espécies acima citadas foi semeada em placa de ágar Sabouraud dextrose e incubada por até 72 horas a 30 °C; a extração do DNA genômico foi realizada de acordo com o método descrito por Bolano e colaboradores (2001) com modificações. Para este procedimento, uma alça cheia da colônia da levedura foi transferida para um tubo de microcentrífuga de 2 ml e congelados a 20 °C por uma hora. Um volume de 500 µL do tampão de lise (NaCl 1,25 mol/L, Dodecil-sulfato-de-sódio - SDS 0,5%, Tris-HCl 100 mmol/L, pH 7,5, EDTA 0,25 mol/L, pH 8,0) e 5 µL de 2-mercaptoetanol foram adicionados em cada tubo, vortexado por 2 minutos e incubados a 65 °C por 1 hora. O lisado foi extraído com 500 µL da mistura fenol-cloroforme-álcool isoamílico (proporção 25: 24: 1) e vortexado por 2 minutos. Os tubos foram centrifugados por 15 minutos a 12000 rpm. A fase aquosa foi transferida para um novo tubo, e o DNA foi precipitado pela adição de 500 µL de isopropanol a 20 °C “overnight”. A solução foi centrifugada por 15 minutos a 12000 rpm para obtenção do “*pellet*” de DNA. O “*pellet*” foi lavado com etanol 70%, centrifugado por 15 minutos a 12000 rpm e deixado volatizar. Após a completa volatização do etanol, o DNA foi ressuspensionado em 400 µl de TE (Tris-HCl 10 mmol/L,

pH 7,5 , EDTA 0,5 mol/L, pH 8.0) contendo 50 µg/mL de RNase A (Invitrogen®, Brasil), incubado a 37 °C por 40 minutos e estocando a 4 °C “*overnight*” e estocados a 20 °C para posterior uso nas reações de PCR.

A pureza e a quantificação do DNA extraído foram avaliadas por leituras de densidade óptica (DO) em espectrofotômetro de luz UV (Biophotometer Eppendorf 22331), a 260 nm e 280 nm e calculada a razão D.O. 260 nm/280 nm, que mostrou ser de boa qualidade, livre de proteínas e outros resíduos quando seu valor esteve entre 1,7 e 2,0.

5.6.2. Reação de PCR-*fingerprinting*

A reação de PCR foi baseada em sequências de amplificação aleatória minisatélite de fago M13 (5’GAGGGTGGCGGTTCT 3’), como *primer* único da reação, utilizando o protocolo de Meyer e colaboradores (2001), com adaptações. Todas as reações de amplificação foram realizadas de forma independente, em um volume de 25 µL, contendo 1,0 µl de DNA genômico (2,5 ng/ml), 2,5 µl de tampão (10X), 1,6 µl de deoxinocleotídeo trifosfato (2,5mM), 1,25 µl de primer (20 pmol) e 0,2 µl Taq DNA polimerase (5U µl/ml) (Invitrogen®, Brasil) e completando o volume final com água Mili-Q ultrapura (Invitrogen®, Brasil).

O termociclador T100™ Thermal Cycler (Bio-rad Laboratories®, Reino Unido) foi programado durante 3 minutos a 94 °C para desnaturação inicial, seguido de 40 ciclos de desnaturação de 1 minuto a 94 °C, anelamento por 20 segundos a 45 °C, extensão por 2 minutos a 72 °C, e extensão final de 10 minutos a 72 °C.

5.6.3. Condições eletroforéticas

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em de gel de agarose à 2,0% em tampão TE 1X, com a adição de brometo de etídio (0,8 µL/100 mL) (Invitrogen®, Brasil; 10 mg/ml) à 70 V durante 4 horas. O resultado foi observado sob luz ultravioleta e fotografado utilizando o aparelho Kodak Gel Logic 2200 Imaging System (Molecular Imaging Software®).

5.6.4. Avaliação da similaridade dos padrões de bandas

Os perfis de PCR-*fingerprinting* foram analisados de acordo com a presença ou ausência de bandas definidas nas imagens de géis digitalizados. O software Bionumerics, versão 6.6 (Applied Maths®, Bélgica), foi usado para estabelecer as relações genéticas entre as cepas. Os níveis de semelhança foram calculados utilizando o coeficiente de Dice e as análises das matrizes de similaridade foram construídas utilizando o método aritmético para dados não pareados (UPGMA). A tolerância escolhida para comparar as bandas foi de 2%, (SOLL, 2000).

RESULTADOS

6. RESULTADOS

6.1. Positividade para as leveduras

Dados de incidência de leveduras, em relação às espécies de aves estudadas, estão apresentados na Tabela 5. No geral, observam-se elevado percentual de isolamento, 89%, independentemente da ave. No entanto, a ave que apresentou a maior ocorrência foi galinha, seguida do pássaro do amor, calopsita, periquito australiano e canário.

Tabela 5 – Incidência do resultado positivo para leveduras de acordo com a espécie aviária estudada.

Ave	Nome Científico	N	Positivo (%)	Negativo (%)
Pássaro-do-amor	<i>Agapornis spp</i>	40	37 (92,5%)	3 (7,5%)
Periquito-australiano	<i>Melopsittacus undulatus</i>	40	34 (85,0%)	6 (15,0%)
Canário	<i>Serinus canaria domesticus</i>	40	31 (77,5%)	9 (22,5%)
Calopsita	<i>Nymphicus hollandicus</i>	44	40 (90,9%)	4 (9,1%)
Galinha	<i>Gallus gallus domesticus</i>	83	78 (94,0%)	5 (6,0%)
Total		247	220 (89,0%)	27 (11,0%)

6.2. Distribuição dos isolados

Em 318 isolados de 29 espécies diferentes, a distribuição dos isolados, segundo a espécie de ave estudada, segue na Tabela 6. O gênero prevalente foi *Candida* com 183 isolados (57,5%), seguido de *Cryptococcus sp* com 45 (14,2%), *Rhodotorula sp* com 38 (11,9%) e *Trichosporon sp* com 36 (11,3%). Os demais gêneros totalizaram 16 isolados (5,0%). Nota-se que, em relação ao número de isolados por espécie fúngica, *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis* e *Rhodotorula mucilaginosa* corresponderam às de maior ocorrência.

Tabela 6. Distribuição dos espécimes de leveduras isoladas, de acordo com a espécie de ave estudada.

Espécies	Número total de isolados	%	Pássaro-do-amor	Galinha	Periquito-australiano	Calopsita	Canário
			<i>Agapornis sp</i> N=40	<i>Gallus gallus</i> N=83	<i>M. undulatus</i> N=40	<i>N. hollandicus</i> N=44	<i>S. canaria</i> N=40
<i>Candida albicans</i>	50	15,72	-	43	1	6	-
<i>Candida catenulata</i>	14	4,40	-	14	-	-	-
<i>Candida famata</i>	26	8,18	3	10	3	8	2
<i>Candida glabrata</i>	3	0,94	-	3	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	34	10,69	10	1	7	11	5
<i>Candida krusei</i>	1	0,31	-	-	1	-	-
<i>Candida lipolytica</i>	2	0,63	-	-	-	1	1
<i>Candida lusitaniae</i>	3	0,94	-	1	-	2	-
<i>Candida membranifaciens</i>	5	1,57	-	-	-	3	2
<i>Candida parapsilosis</i>	4	1,26	2	-	1	-	1
<i>Candida tropicalis</i>	36	11,32	2	18	7	7	2
<i>Candida zeylanoides</i>	5	1,57	-	4	-	-	1
<i>Cryptococcus albidus</i>	15	4,72	9	-	-	4	2
<i>Cryptococcus curvatus</i>	1	0,31	-	-	-	-	1
<i>Cryptococcus humicola</i>	5	1,57	-	-	-	1	4
<i>Cryptococcus laurentii</i>	9	2,83	1	4	1	1	2
<i>Cryptococcus neoformans</i>	7	2,20	4	-	1	1	1
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	8	2,52	4	-	3	-	1
<i>Geotrichum candidum</i>	1	0,31	-	-	-	1	-
<i>Kodamaea ohmeri</i>	8	2,52	1	-	1	4	2
<i>Rhodotorula glutinis</i>	3	0,94	-	-	-	1	2
<i>Rhodotorula minuta</i>	1	0,31	1	-	-	-	-
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	34	10,69	5	6	9	5	9
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	4	1,26	1	-	-	3	-
<i>Trichosporon asahii</i>	20	6,29	1	7	2	9	1
<i>Trichosporon gracile</i>	3	0,94	-	-	3	-	-
<i>Trichosporon inkin</i>	7	2,20	2	1	3	-	1
<i>Trichosporon mucoides</i>	6	1,89	-	-	1	3	2
<i>Zygosaccharomyces spp</i>	3	0,94	-	3	-	-	-
Número total de isolados (Número de amostras positivas para leveduras)	318 (220)		46 (37)	115 (78)	44 (34)	71 (40)	42 (31)

Candida famata, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. laurentii*, *R. mucilaginosa* e *T. asahii* foram as leveduras comuns a todas as aves estudadas. Diferentemente, algumas espécies de leveduras foram encontradas para uma única espécie de ave: *Rhodotorula minuta* ocorreu somente no pássaro-do-amor (*Agapornis sp*); *Candida catenulata*, *Candida glabrata* e *Zygosacharomyces* spp em galinhas (*Gallus gallus*); *C. krusei* e *T. gracile* nos periquitos-australianos (*M. undulatus*); *G. candidum* em calopsitas (*N. hollandicus*); e *C. curvatus* em canários (*S. canaria*). Observou-se concomitância de algumas espécies de leveduras entre duas a quatro espécies de aves diferentes.

Demonstra-se a seguir, a análise dos resultados por ave, onde as relações de porcentagem de espécie descritas são correspondentes ao total de isolados de cada ave.

a) Pássaro-do-amor (*Agapornis sp*)

O gênero prevalente foi *Cryptococcus*, totalizando 18 isolados (39,1%), sendo *Cryptococcus albidus* mais comum, com nove isolados (19,6%). No entanto, *Candida* spp seguiu com 17 isolados, representando (37,0%), com *C. guilliermondii* como espécie prevalente (21,7%). Destaca-se a presença de *C. neoformans* com quatro isolados (8,7%).

b) Galinha (*Gallus gallus*)

Candida sp destacou-se como grupo fúngico comum, totalizando 94 isolados (81,7%), e a espécie prevalente, *Candida albicans* com 43 isolados (45,7%).

c) Periquito-australiano (*M. undulatus*)

Candida sp ocorreu em 20 isolados (45,45%). No entanto, a espécie comum foi *Rhodotorula mucilaginosa* com nove isolados (20,5%). Também se observou a presença de *C. neoformans*, em apenas um isolado (2,3%).

d) Calopsita (*N. hollandicus*)

O gênero prevalente foi *Candida sp*, totalizando 38 isolados (56,7%), sendo a espécie *Candida guilliermondii* mais comum, com 11 isolados (16,42). É observada a presença de apenas um isolado (1,4%) de *C. neoformans*.

e) Canário-do-reino (*S. canaria*)

O gênero prevalente foi *Candida sp*, totalizando 14 isolados (34,3%). Entretanto, a espécie mais frequentemente isolada foi *Rhodotorula mucilaginosa*, com oito isolados (19,0%). Novamente, *C. neoformans* é obtido com apenas um isolado (2,4%).

6.3. Resistência antifúngica

Nenhum isolado apresentou resistência ao poliênico anfotericina B ou ao azólico cetoconazol. Os resultados obtidos para os demais antifúngicos testados, fluconazol (FCZ) e itraconazol (ITZ), são apresentados nas Figuras 6-15 e Tabelas 7-17.

Nos gráficos, o eixo *x* representa as espécies leveduriformes isoladas para cada ave, e o eixo *y* a quantidade de espécimes. O preenchimento em círculos corresponde às cepas sensíveis (S) à fluconazol, assim como em losangos à itraconazol. O preenchimento em linhas diagonais corresponde à suscetibilidade dose-dependente (SDD) e o preenchimento em cinza a resistência (R) ao antifúngico.

Tabela 7 – Quadro geral de percentuais e quantidade (N) dos isolados de cada espécie aviária relacionada à suscetibilidade antifúngica.

Ave	Total	Fluconazol			Itraconazol		
		Sensível	SDD	Resistente	Sensível	SDD	Resistente
Pássaro-do-amor	46	27 (58,7%)	5 (10,87%)	14 (30,43%)	24 (52,2%)	1 (2,2%)	21 (45,6%)
Galinha	115	97 (84,4%)	5 (4,4%)	13 (11,3%)	89 (77,4%)	6 (5,2%)	20 (17,4%)
Periquito-australiano	44	31 (70,4%)	3 (6,8%)	10 (22,7%)	27 (61,4%)	5 (11,4 %)	12 (27,3%)
Calopsita	71	61 (85,9%)	1 (1,4%)	9 (12,7%)	42 (59,2%)	5 (7,0%)	24 (33,8%)
Canário	42	26 (61,9%)	1 (2,4%)	15 (35,7%)	20 (47,6%)	2 (4,8%)	20 (47,6%)
Total	318	242 (76,1%)	15 (4,7%)	61 (19,2%)	205 (64,5%)	23 (7,2%)	90 (28,3%)

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

Evidencia-se que, 61 isolados apresentaram resistência e 15, sensibilidade dose-dependente ao Fluconazol; ao Itraconazol, 90 resistência e 23 dose-dependência.

a) Pássaro-do-amor (*Agapornis* spp)

Adverte-se frente aos isolados do pássaro-do-amor, que 19 (41,3%) apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente à fluconazol e, 22 (47,8%) ao itraconazol. *R. minuta* (1/1) e *R. mucilaginosa* (5/5) mostraram resistência para os dois azólicos (FCZ e ITZ). Houve padrão único de resistência para maioria dos isolados de *C. albidus* (9/9) e (8/9), e *C. uniguttulatus* (2/4) e (1/4) frente FCZ e ITZ, respectivamente. *Cryptococcus neoformans* apresentou suscetibilidade dose-dependente à FCZ em dois de quatro isolados (Figura 6 e 10; Tabela 10 e 11).

Figura 6 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de *Agapornis* spp. O eixo x representa as espécies leveduriformes isoladas e o eixo y a quantidade de espécimes.

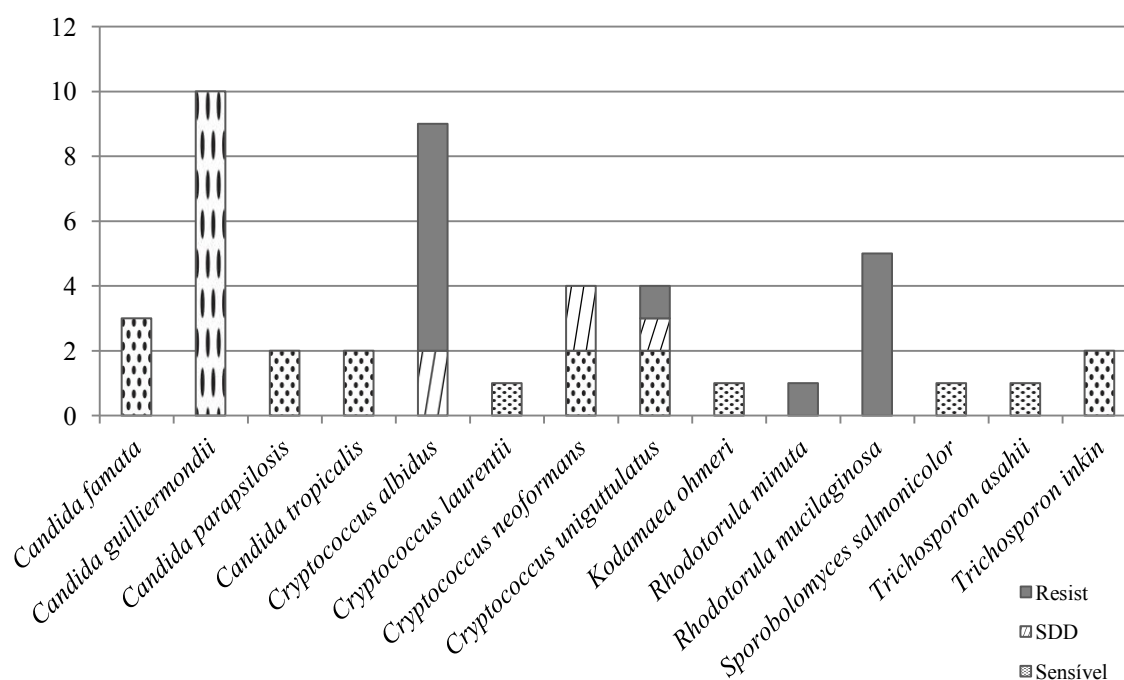


Tabela 8 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados fúngicos de *Agapornis* spp.

Espécies	Total	Sensível	SDD	Resistente	Faixa de MIC (µg/ml)
<i>Candida famata</i>	3 (6,5%)	3 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	10 (21,7%)	10 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	2 (4,3%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	2 (4,3%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	9 (19,6%)	-	2 (22,3%)	7 (77,7%)	32,0-128,0
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1 (2,2%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	4 (8,7%)	2 (50,0%)	2 (50,0%)	-	-
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	4 (8,7%)	2 (50,0%)	1 (25,0%)	1 (25,0%)	0-128,0
<i>Kodamaea ohmeri</i>	1 (2,2%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Rhodotorula minuta</i>	1 (2,2%)	-	-	1 (100,0%)	128,0
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	5 (10,9%)	-	-	5 (100,0%)	128,0
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	1 (2,2%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Trichosporon asahii</i>	1 (2,2%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Trichosporon inkin</i>	2 (4,3%)	2 (100,0%)	-	-	-
Total	46	27 (58,7%)	5 (10,9%)	14 (30,4%)	0-128,0

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

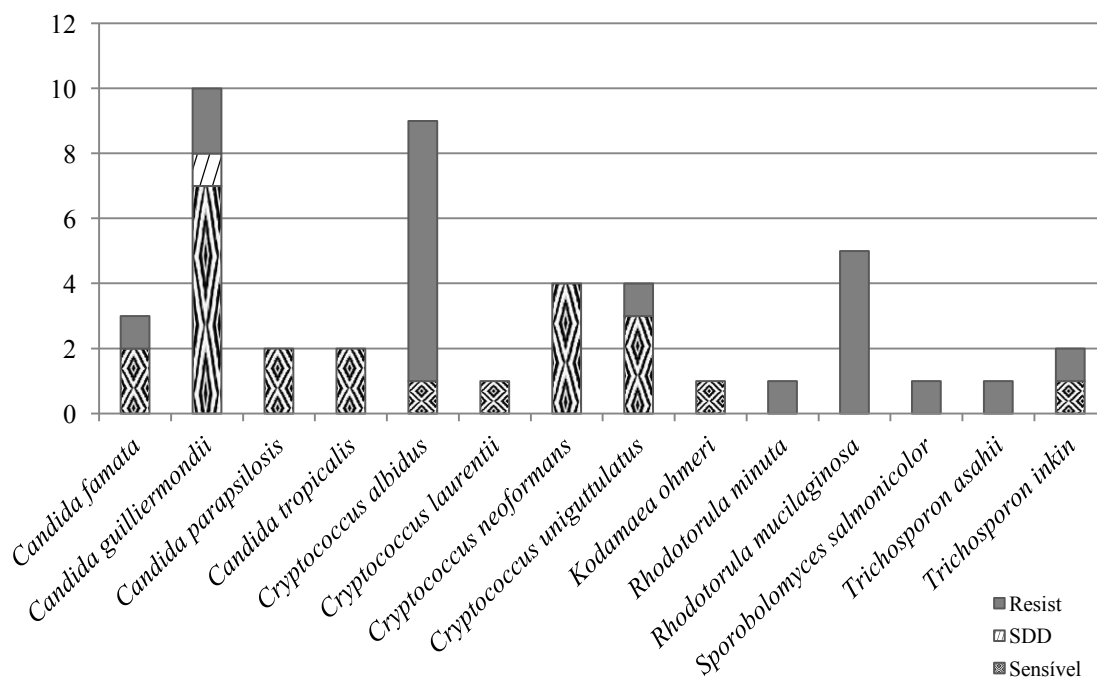
Figura 7 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de *Agapornis* spp. O eixo x representa as espécies leveduriformes isoladas e o eixo y a quantidade de espécimes.

Tabela 9 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de *Agapornis* spp.

Espécies	Total	Sensível	SDD	Resistente	Faixa de MIC (µg/ml)
<i>Candida famata</i>	3 (6,5%)	2 (66,7%)	-	1 (33,3%)	0-1,0
<i>Candida guilliermondii</i>	10 (21,7%)	7 (70,0%)	1 (10,0%)	2 (20,0%)	0,5-2,0
<i>Candida parapsilosis</i>	2 (4,3%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	2 (4,3%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	9 (19,6%)	1 (11,1%)	-	8 (88,9%)	2,0-16,0
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1 (2,2%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	4 (8,7%)	4 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	4 (8,7%)	3 (75,0%)	-	1 (25,0%)	0-16,0
<i>Kodamaea ohmeri</i>	1 (2,2%)	1 (100,0%)	-	0	-
<i>Rhodotorula minuta</i>	1 (2,2%)	-	-	1 (100,0%)	16,0
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	5 (10,9%)	-	-	5 (100,0%)	16,0
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	1 (2,2%)	-	-	1 (100,0%)	2,0
<i>Trichosporon asahii</i>	1 (2,2%)	-	-	1 (100,0%)	2,0
<i>Trichosporon inkin</i>	2 (4,3%)	1 (50,0%)	-	1 (50,0%)	0-1,0
Total	46	24 (52,2%)	1 (2,2%)	21 (45,6%)	0-16

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

b) Galinha (*Gallus gallus*)

Do total de isolados fúngicos de galinha (46), 18 (15,7%) apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente ao fluconazol e 26 (22,6%) ao itraconazol. Em relação a ambos derivados azólicos, 12 cepas apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente, a saber: *C. tropicalis* (4/18), *C. laurentii* (2/4) e *R. mucilaginosa* (6/6). Houve um comportamento padrão de resistência dos isolados de *C. albicans* (2/43) e (1/43), e *C. glabrata* (2/3) e (3/3) para FCZ e ITZ, respectivamente. Para *Trichosporon asahii*, quatro apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente ao ITZ. O perfil de sensibilidade dose dependente ao FCZ ocorreu para *C. catenulata* em apenas um de quatorze isolados, enquanto *C. zeylanoides* (2/4). *Candida famata* apresentou resistência ao ITZ em 70% dos isolados. Embora em raros casos, um isolado de *T. inkin* e três *Zygosaccharomyces spp* foram resistentes e suscetíveis dose-dependente ao mesmo antifúngico (Figuras 8 e 9; Tabelas 12 e 13).

Figura 8 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de *Gallus gallus*. O eixo x representa as espécies leveduriformes isoladas e o eixo y a quantidade de espécimes.

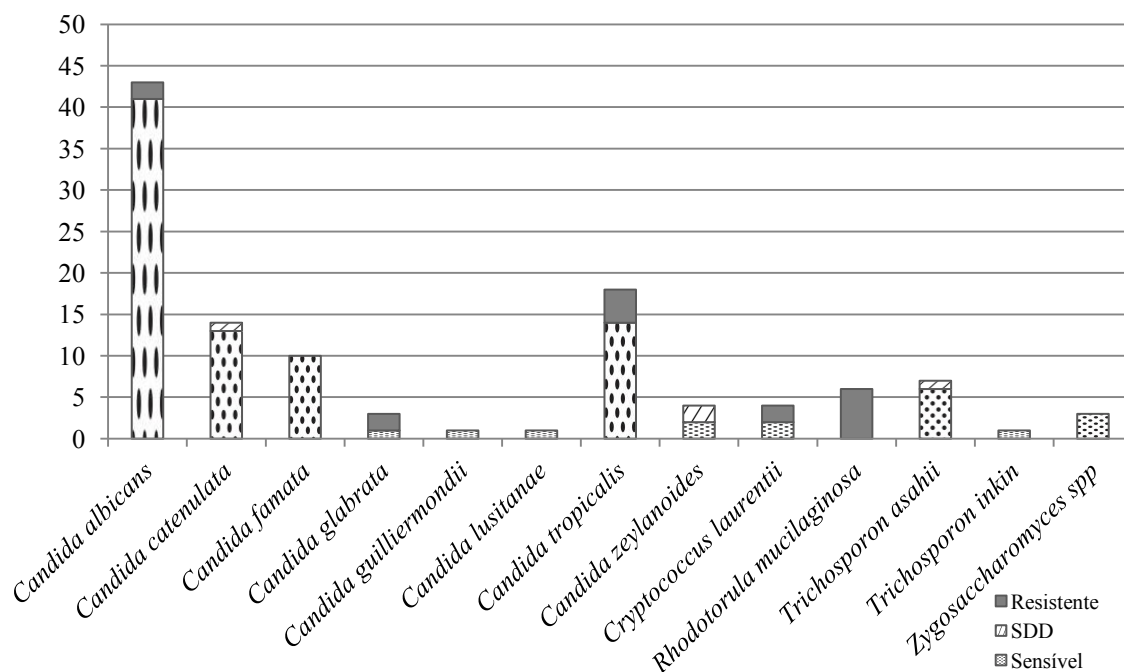


Tabela 10 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de *Gallus gallus*.

Espécies	Total	Sensível	SDD	Resistente	Faixa de MIC (µg/ml)
<i>Candida albicans</i>	43 (37,4%)	41 (95,4%)	-	2 (4,7%)	0-128,0
<i>Candida catenulata</i>	14 (12,2%)	13 (92,9%)	1 (7,1%)	-	0-16,0
<i>Candida famata</i>	10 (8,7%)	10 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida glabrata</i>	3 (2,6%)	1 (33,3%)	-	2 (66,7%)	0-128,0
<i>Candida guilliermondii</i>	1 (0,9%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida lusitanae</i>	1 (0,9%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	18 (15,65%)	14 (77,8%)	-	4 (22,2%)	0-128,0
<i>Candida zeylanoides</i>	4 (3,5%)	2 (50,0%)	2 (50,0%)	-	0-16,0
<i>Cryptococcus laurentii</i>	4 (3,5%)	2 (50,0%)	-	2 (50,0%)	0-128,0
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	6 (5,2%)	-	-	6 (100,0%)	0-128,0
<i>Trichosporon asahii</i>	7 (6,0%)	6 (85,7%)	1 (14,3%)	-	0-32,0
<i>Trichosporon inkin</i>	1 (0,9%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Zygosaccharomyces spp</i>	3 (2,6%)	3 (100,0%)	-	-	-
Total	115	97 (84,4%)	5 (4,4%)	13 (11,3%)	0-128,0

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

Figura 9 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de *Gallus gallus*. O eixo x representa as espécies leveduriformes isoladas e o eixo y a quantidade de espécimes.

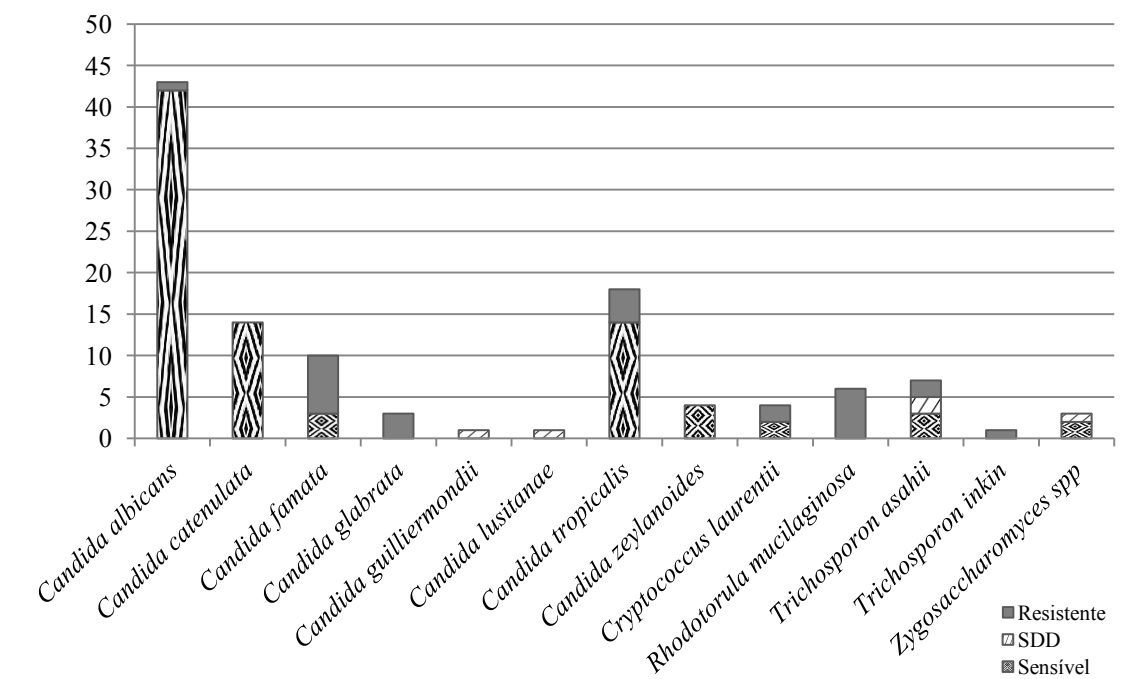


Tabela 11 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de *Gallus gallus*.

Espécies	Total	Sensível	SDD	Resistente	Faixa de MIC (µg/ml)
<i>Candida albicans</i>	43 (37,4%)	42 (97,7%)	-	1 (2,3%)	0-0,25
<i>Candida catenulata</i>	14 (12,2%)	14 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida famata</i>	10 (8,7%)	3 (30,0%)	-	7 (70,0%)	0-4,0
<i>Candida glabrata</i>	3 (2,6%)	-	-	3 (100,0%)	16,0
<i>Candida guilliermondii</i>	1 (0,9%)	-	1 (100,0%)	-	0,5
<i>Candida lusitanae</i>	1 (0,9%)	-	1 (100,0%)	-	0,5
<i>Candida tropicalis</i>	18 (15,65%)	14 (77,8%)	-	4 (22,2%)	0-16,0
<i>Candida zeylanoides</i>	4 (3,5%)	4 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus laurentii</i>	4 (3,5%)	2 (50,0%)	-	2 (50,0%)	0-4,0
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	6 (5,2%)	-	-	6 (100,0%)	16,0
<i>Trichosporon asahii</i>	7 (6,0%)	3 (42,9%)	2 (28,6%)	2 (28,6%)	0-2,0
<i>Trichosporon inkin</i>	1 (0,9%)	-	-	1 (100,0%)	1,0
<i>Zygosaccharomyces spp</i>	3 (2,6%)	2 (66,7%)	1 (33,3%)	-	0-0,5
Total	115	89 (77,4%)	6 (5,2%)	20 (17,4%)	0-16,0

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

c) Periquito-australiano (*M. undulatus*)

Do total de isolados fúngicos de periquito-australiano, 13 (29,5%) apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente ao fluconazol e 17 (38,76%) ao itraconazol. Em relação a ambos derivados azólicos, 11 espécimes apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente, a saber: *C. krusei* (1/1), *C. laurentii* (1/1) e *R. mucilaginosa* (9/9). Perfis de resistência comum ocorreram para isolados de *C. uniguttulatus* (2/3) e (1/3), para FCZ e ITZ respectivamente. Resistência ao ICZ se deveu a um caso de *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*; *Trichosporon* (Figuras 10 e 11; Tabelas 14 e 15).

Figura 10 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de *M. undulatus*. O eixo x representa as espécies leveduriformes isoladas e o eixo y a quantidade de espécimes.

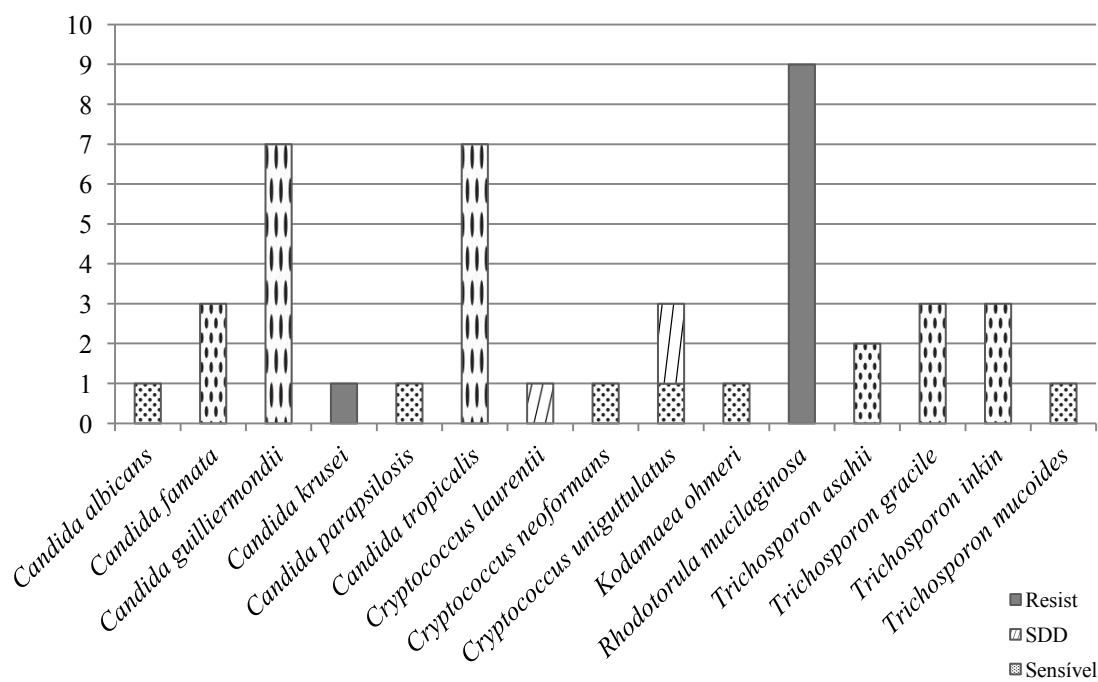


Tabela 12 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de *M. undulatus*.

Espécies	Total	Sensível	SDD	Resistente	Faixa de MIC (µg/ml)
<i>Candida albicans</i>	1 (2,3%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida famata</i>	3 (6,8%)	3 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	7 (15,9%)	7 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida krusei</i>	1 (2,3%)	-	-	1 (100,0%)	0-128,0
<i>Candida parapsilosis</i>	1 (2,3%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	7 (15,9%)	7 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1 (2,3%)	-	1 (100,0%)	-	16
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 (2,3%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	3 (6,8%)	1 (33,3%)	2 (66,7%)	-	0-32,0
<i>Kodamaea ohmeri</i>	1 (2,3%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	9 (20,5%)	-	-	9 (100,0%)	0-128,0
<i>Trichosporon asahii</i>	2 (4,6%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Trichosporon gracile</i>	3 (6,8%)	3 (100,0%)	-	-	-
<i>Trichosporon inkin</i>	3 (6,8%)	3 (100,0%)	-	-	-
<i>Trichosporon mucoides</i>	1 (2,3%)	1 (100,0%)	-	-	-
Total	44	31 (70,4%)	3 (6,8%)	10 (22,7%)	0-128,0

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

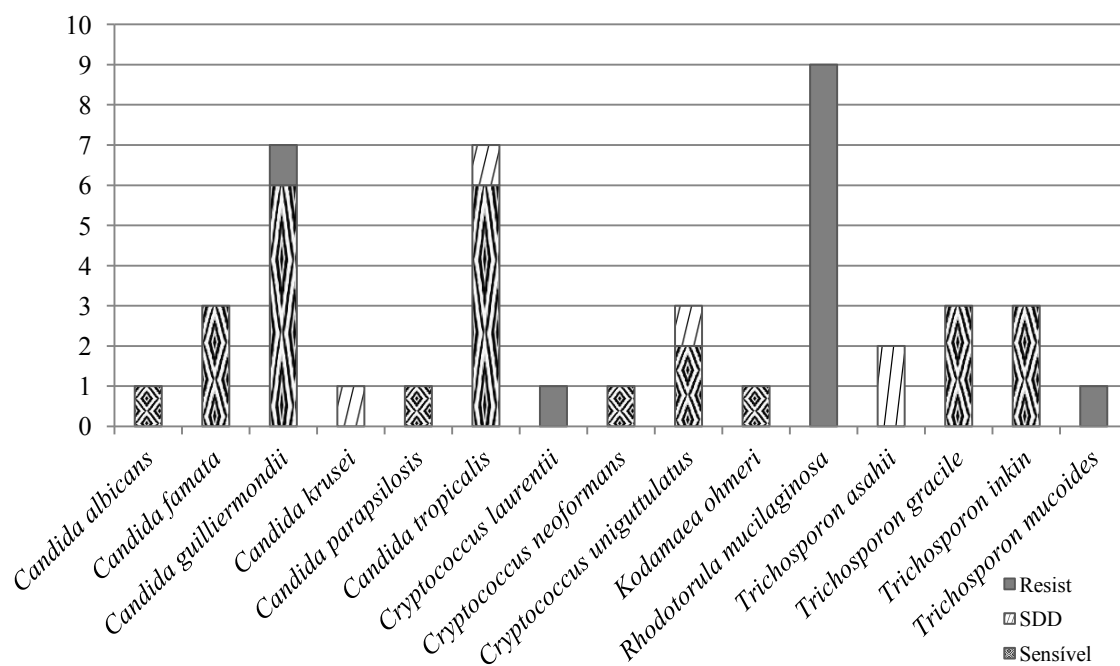
Figura 11 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de *M. undulatus*. O eixo x representa as espécies leveduriformes isoladas e o eixo y a quantidade de espécimes.

Tabela 13 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de *M. undulatus*.

Espécies	Total	Sensível	SDD	Resistente	Faixa de MIC (µg/ml)
<i>Candida albicans</i>	1 (2,3%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida famata</i>	3 (6,8%)	3 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	7 (15,9%)	6 (85,7%)	-	1 (14,3%)	0-2,0
<i>Candida krusei</i>	1 (2,3%)	-	1 (100,0%)	-	0,5
<i>Candida parapsilosis</i>	1 (2,3%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	7 (15,9%)	6 (85,7%)	1 (14,3%)	-	0-0,5
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1 (2,3%)	-	-	1 (100,0%)	0-2,0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 (2,3%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	3 (6,8%)	2 (66,7%)	1 (33,3%)	-	0-0,5
<i>Kodamaea ohmeri</i>	1 (2,3%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	9 (20,5%)	-	-	9 (100,0%)	2,0-16,0
<i>Trichosporon asahii</i>	2 (4,6%)	-	2 (100,0%)	-	0,5
<i>Trichosporon gracile</i>	3 (6,8%)	3 (100,0%)	-	-	-
<i>Trichosporon inkin</i>	3 (6,8%)	3 (100,0%)	-	-	-
<i>Trichosporon mucoides</i>	1 (2,3%)	-	-	1 (100,0%)	0-1,0
Total	44	27 (61,4%)	5 (11,4 %)	12 (27,3%)	0-16,0

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

d) *Calopsita* (*N. hollandicus*)

Do total de isolados fúngicos de calopsita (71), 10 (14,1%) apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente ao fluconazol e 29 (40,8%) ao itraconazol. Em relação a ambos derivados azólicos, sete apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente, a saber: *C. neoformans* (1/1), *R. mucilaginosa* (4/4), *R. glutinis* (1/1) e *R. minuta* (1/1). Houve diferença entre os perfis de resistência ou dose-dependência ao FCZ e ITZ, respectivamente, para os isolados de *C. albidus* (2/4) e (4/4), e *T. asahii* (1/9) e (6/9). Apresentaram perfis únicos de resistência ou dose-dependência à ICZ: *C. famata* (1/8), *C. guilliermondii* (5/11), *C. laurentii* (1/1), *K. ohmeri* (1/1), *S. salmonicolor* (2/3) e *T. mucoides* (2/3) (Figuras 12 e 13; Tabelas 16 e 17).

Figura 12 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de *N. hollandicus*. O eixo x representa as espécies leveduriformes isoladas e o eixo y a quantidade de espécimes.

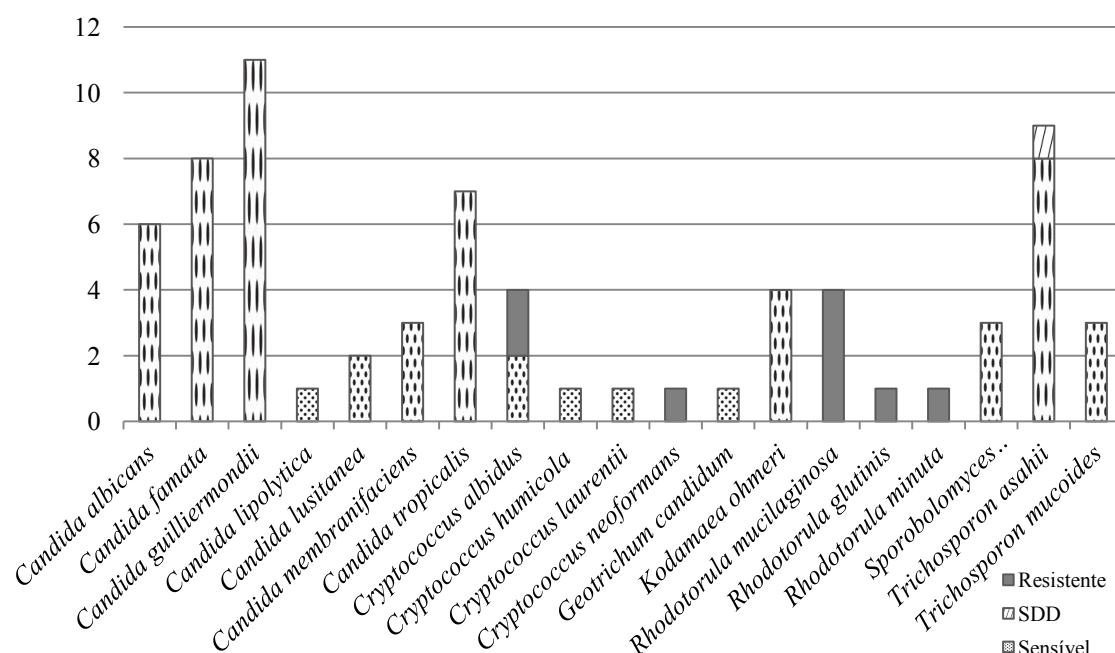


Tabela 14 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de *N. hollandicus*.

Espécies	Total	Sensível	SDD	Resistente	Faixa de MIC (µg/ml)
<i>Candida albicans</i>	6 (8,5%)	6 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida famata</i>	8 (11,3%)	8 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	11 (15,5%)	11 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida lipolytica</i>	1 (1,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida lusitanea</i>	2 (2,8%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida membranifaciens</i>	3 (4,2%)	3 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	7 (9,9%)	7 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	4 (5,6%)	2 (50,0%)	-	2 (50,0%)	0-128,0
<i>Cryptococcus humicola</i>	1 (1,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1 (1,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 (1,4%)	-	-	1 (100,0%)	128,0
<i>Geotrichum candidum</i>	1 (1,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Kodamaea ohmeri</i>	4 (5,6%)	4 (100,0%)	-	-	-
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	4 (5,6%)	-	-	4 (100,0%)	128,0
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1 (1,4%)	-	-	1 (100,0%)	128,0
<i>Rhodotorula minuta</i>	1 (1,4%)	-	-	1 (100,0%)	128,0
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	3 (4,2%)	3 (100,0%)	-	-	-
<i>Trichosporon asahii</i>	9 (12,7%)	8 (88,9%)	1 (11,1%)	-	0-32,0
<i>Trichosporon mucoides</i>	3 (4,2%)	3 (100,0%)	-	-	-
Total	71	61 (85,9%)	1 (1,4%)	9 (12,7%)	0-128,0

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

Figura 13 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de *N. hollandicus*. O eixo x representa as espécies leveduriformes isoladas e o eixo y a quantidade de espécimes.

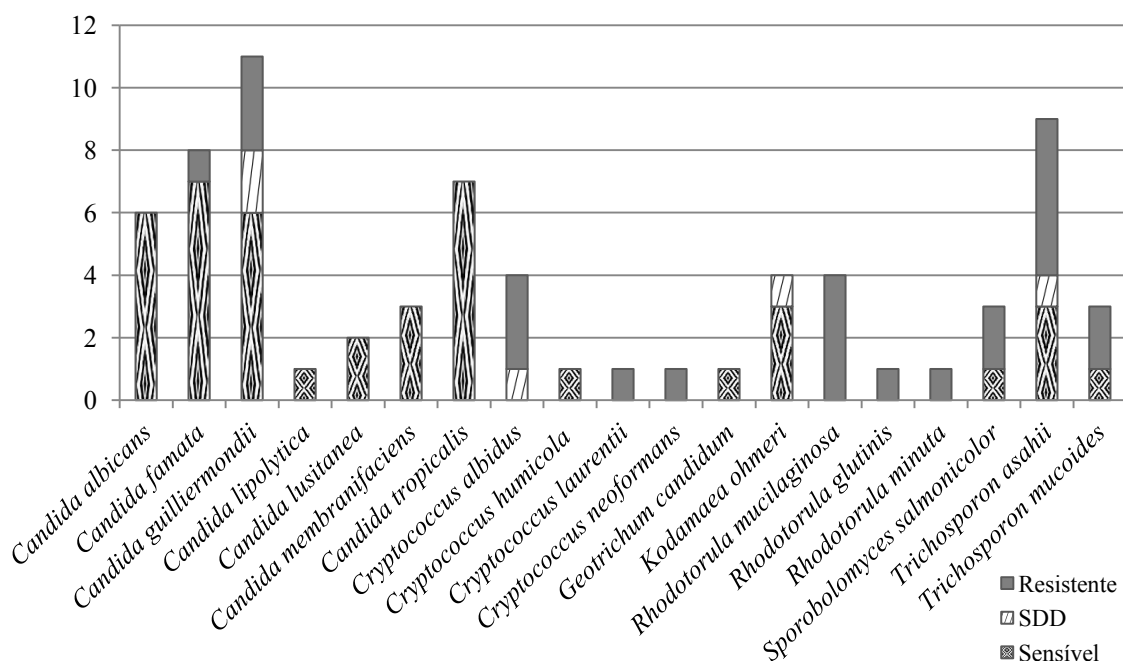


Tabela 15 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de *N. hollandicus*.

Espécies	Total	Sensível	SDD	Resistente	Faixa de MIC (µg/ml)
<i>Candida albicans</i>	6 (8,5%)	6 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida famata</i>	8 (11,3%)	7 (87,5%)	-	1 (12,5%)	0-2,0
<i>Candida guilliermondii</i>	11 (15,5%)	6 (54,5%)	2 (18,2%)	3 (27,3%)	0-4,0
<i>Candida lipolytica</i>	1 (1,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida lusitanea</i>	2 (2,8%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida membranifaciens</i>	3 (4,2%)	3 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	7 (9,9%)	7 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	4 (5,6%)	-	1 (25,0%)	3 (75,0%)	0,5-16,0
<i>Cryptococcus humicola</i>	1 (1,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1 (1,4%)	-	-	1 (100,0%)	1,0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 (1,4%)	-	-	1 (100,0%)	16,0
<i>Geotrichum candidum</i>	1 (1,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Kodamaea ohmeri</i>	4 (5,6%)	3 (75,0%)	1 (25,0%)	-	0-0,5
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	4 (5,6%)	-	-	4 (100,0%)	16,0
<i>Rhodotorula glutinis</i>	1 (1,4%)	-	-	1 (100,0%)	16,0
<i>Rhodotorula minuta</i>	1 (1,4%)	-	-	1 (100,0%)	-
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	3 (4,2%)	1 (33,3%)	-	2 (66,7%)	2,0-16,0
<i>Trichosporon asahii</i>	9 (12,7%)	3 (33,3%)	1 (11,1%)	5 (55,6%)	0-4,0
<i>Trichosporon mucoides</i>	3 (4,2%)	1 (33,3%)	-	2 (66,7%)	0-8,0
Total	71	42 (59,2%)	5 (7,0%)	24 (33,8%)	0-16,0

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

e) Canário-do-reino (*S. canaria*)

Do total de isolados fúngicos de canário (71), 16 (38,1%) apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente ao fluconazol e 22 (52,4%) ao itraconazol; 12 apresentaram resistência ou suscetibilidade dose-dependente concomitantes aos azólicos, a saber: *C. uniguttulatus* (1/1), *R. glutinis* (2/2), *R. mucilaginosa* (8/8), e *T. asahii* (1/1). *T. mucoides* apresentou um isolado resistente ao FCZ e dois ao ITZ. Apresentaram perfis de resistência ou dose-dependência à FCZ: *C. albidus* (1/2) e *C. curvatus* (1/1). Apresentaram perfis de resistência ou dose-dependência à ICZ: *C. guilliermondii* (2/5), *C. lipolytica* (1/1), *C. parapsilosis sensu lato* (1/1), *C. laurentii* (1/2), *C. neoformans* (1/1) e *T. inkin* (1/1) (Figuras 14 e 15; Tabelas 18 e 19).

Figura 14 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de *S. canaria*. O eixo x representa as espécies leveduriformes isoladas e o eixo y a quantidade de espécimes.

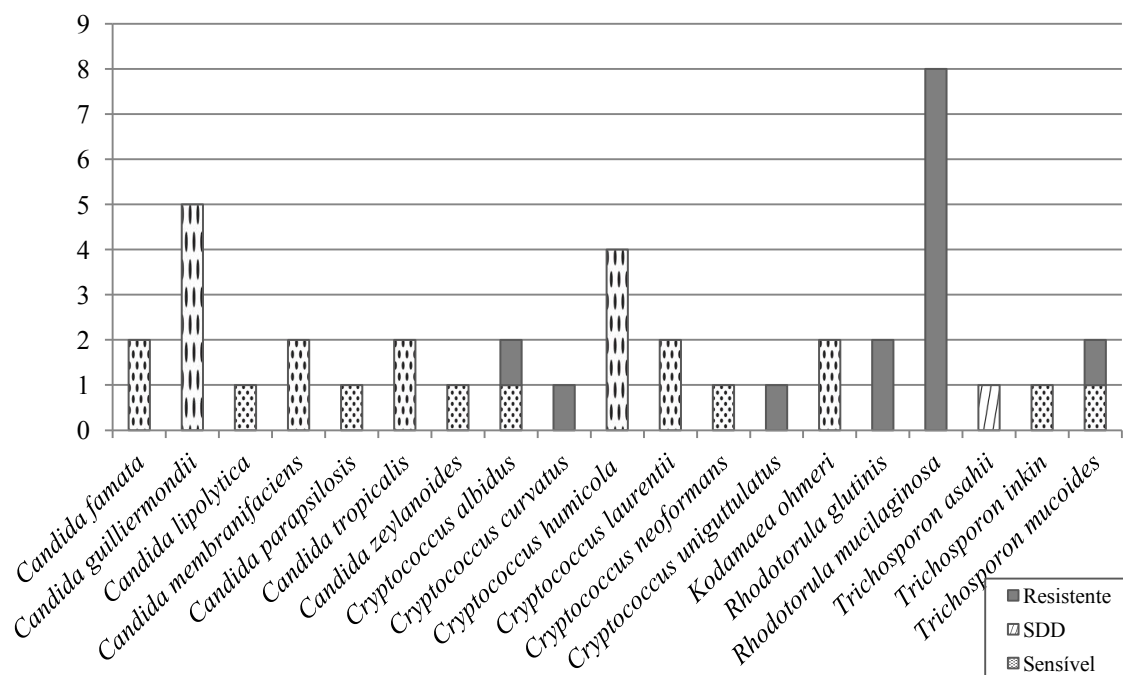


Tabela 16 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao fluconazol de isolados de *S. canaria*.

Espécies	Total	Sensível	SDD	Resistente	Faixa de MIC (µg/ml)
<i>Candida famata</i>	2 (4,9%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	5 (12,2%)	5 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida lipolytica</i>	1 (2,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida membranifaciens</i>	2 (4,9%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	1 (2,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	2 (4,9%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida zeylanoides</i>	1 (2,44%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	2 (4,9%)	1 (50,0%)	-	1 (50,0%)	0-128,0
<i>Cryptococcus curvatus</i>	1 (2,4%)	-	-	1 (100,0%)	128,0
<i>Cryptococcus humicola</i>	4 (9,8%)	4 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus laurentii</i>	2 (4,9%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 (2,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	1 (2,4%)	-	-	1 (100,0%)	128,0
<i>Kodamaea ohmeri</i>	2 (4,9%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Rhodotorula glutinis</i>	2 (4,9%)	-	-	2 (100,0%)	128,0
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	9 (19,5%)	-	-	9 (100,0%)	128,0
<i>Trichosporon asahii</i>	1 (2,4%)	-	1 (100,0%)	-	16,0
<i>Trichosporon inkin</i>	1 (2,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Trichosporon mucoides</i>	2 (4,9%)	1 (50,0%)	-	1 (50,0%)	0-128,0
Total	42	26 (61,9%)	1 (2,4%)	15 (35,7%)	0-128,0

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

Figura 15 – Gráfico de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de *S. canaria*. O eixo *x* representa as espécies leveduriformes isoladas e o eixo *y* a quantidade de espécimes.

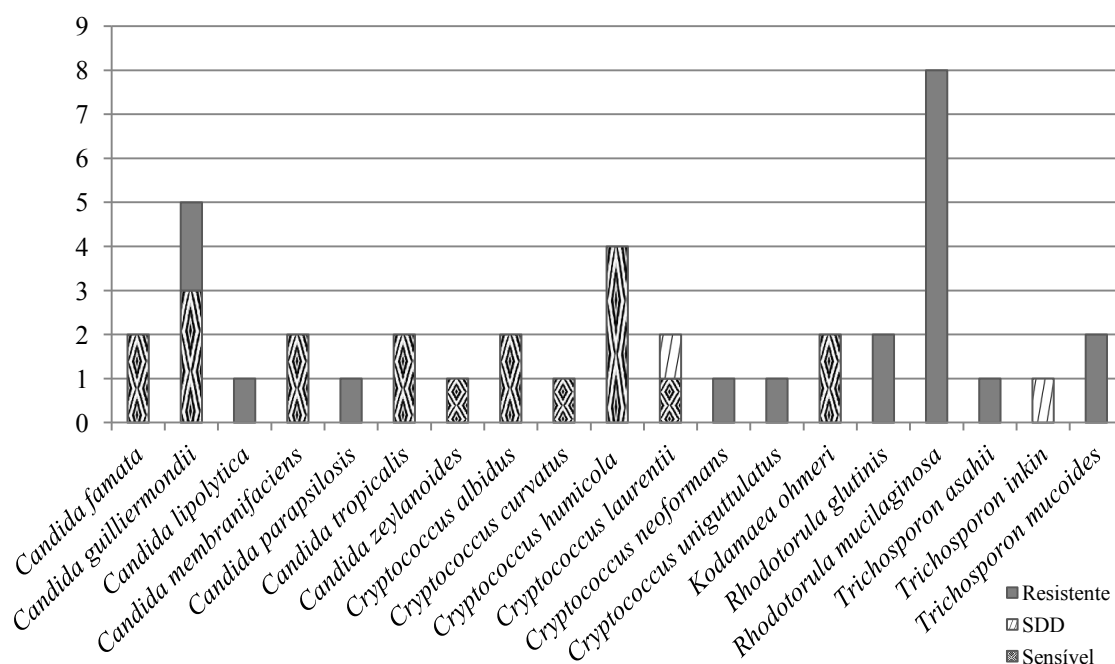


Tabela 17 – Tabela de suscetibilidade antifúngica ao itraconazol de isolados de *S. canaria*.

Espécies	Total	Sensível	SDD	Resistente	Faixa de MIC (µg/ml)
<i>Candida famata</i>	2 (4,9%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida guilliermondii</i>	5 (12,2%)	3 (60,0%)	-	2 (40,0%)	0-16,0
<i>Candida lipolytica</i>	1 (2,4%)	-	-	1 (100,0%)	4,0
<i>Candida membranifaciens</i>	2 (4,9%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	1 (2,4%)	-	-	1 (100,0%)	2,0
<i>Candida tropicalis</i>	2 (4,9%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Candida zeylanoides</i>	1 (2,44%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	2 (4,9%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus curvatus</i>	1 (2,4%)	1 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus humicola</i>	4 (9,8%)	4 (100,0%)	-	-	-
<i>Cryptococcus laurentii</i>	2 (4,9%)	1 (50,0%)	1 (50,0%)	-	0-0,5
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 (2,4%)	-	-	1 (100,0%)	16,0
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	1 (2,4%)	-	-	1 (100,0%)	1,0
<i>Kodamaea ohmeri</i>	2 (4,9%)	2 (100,0%)	-	-	-
<i>Rhodotorula glutinis</i>	2 (4,9%)	-	-	2 (100,0%)	16,0
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	9 (19,5%)	-	-	9 (100,0%)	16,0
<i>Trichosporon asahii</i>	1 (2,4%)	-	-	1 (100,0%)	1,0
<i>Trichosporon inkin</i>	1 (2,4%)	-	1 (100,0%)	-	0,5
<i>Trichosporon mucoides</i>	2 (4,9%)	-	-	2 (100,0%)	0-4,0
Total	42	20 (47,6%)	2 (4,8%)	20 (47,6%)	0-16,0

*SDD: Suscetibilidade Dose-dependente

6.4. PCR-Fingerprinting

Os espécimes de *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis* e *Rhodotorula mucilaginosa* isoladas no presente estudo foram submetidos à análise molecular por PCR-Fingerprinting. Seguem os dendogramas abaixo nas Figuras 16-20. (Estab: estabelecimento, MIC: Concentração Inibitória Mínima, R: Resistente, SDD: Suscetibilidade Dose-dependente, Fluc: Fluconazol e Itra: Itraconazol).

a) *Candida albicans*

Os isolados amplificaram de quatro a 13 bandas com tamanhos que variam de 250 a 3000 pb (Fig. 16). Semelhanças ocorreram nos isolados com valores entre 61,2-100,0%, com dois *clusters* principais (I e II). Ao primeiro, se observou quatro grupos com identidade maior que 90% (a - d), constituídos por 18 isolados; ao segundo, apenas três (e - g), com 12 espécimes. Notou-se 12 agrupamentos com identidade genética total, com isolados oriundos de cidades distintas na maioria dos grupos, excetos os grupos 3, 4, 8 e 10. Também foram observados isolados idênticos de aves diferentes (grupo 1: calopsita e galinha; grupo 2: galinha e periquito-australiano). Não se correlacionou padrões de fenótipos com os genótipos no grupo 3.

b) *Candida guilliermondii*

Todos os isolados amplificaram de três a 13 bandas com tamanhos que variam de 250 a 3000 pb (Fig. 17). Os isolados de *C. guilliermondii* apresentaram perfis com semelhanças entre 42,5-100,0%, com dois *clusters* (I e II) (Fig. 17). Para *Cluster* I, observou-se o agrupamento de dois sub-*clusters*, um com apenas três isolados, distintos geneticamente (a), e outro, com inclusão de 28 isolados de *C. guilliermondii* (b). Ao último, o percentual de identidade variou entre 52,9 a 100%. Neste grupo, cinco sub-*clusters* foram construídos com identidade maior que 90% (b1, b2, b3, b4, b5). Notou-se que, a exceção de dois, a maioria dos isolados tiveram origem geográfica comum, isto é Neves Paulista, com variação de sua ocorrência nas aves. Valorizado esse mesmo

grupo, foi possível observar quatro grupos com identidade genética (100%) (1 - 4), construídos por nove isolados de diferentes aves. Para o *Cluster* II, notou-se o agrupamento de três isolados (80,4% de identidade), de origem aviária e cidades distintas. Não se correlacionou padrões fenotípicos com os genótipos nos grupos 1, 2 e 4.

c) *Candida tropicalis*

Amplificaram de quatro a 16 bandas com tamanhos que variam de 250 a 3000 pb todos os isolados desta espécie (Fig. 17). Semelhanças ocorreram entre os isolados com valores entre 50 a 100%, com a construção de dois clusters principais (I e II). Ao primeiro, se deveu apenas a dois isolados, com 54,5% de identidade. Ao segundo, destacou-se a formação de sete grupos com identidade superior a 90% (a - g), composto por 19 isolados. Considerando-se identidade total genética dos isolados, seis agrupamentos foram visualizados (1 – 6), compostos por 13 isolados. À exceção de dois, houve correlação entre os isolados clonais considerando-se as aves, porém não para cidades de origem. Não se correlacionou padrões fenotípicos com os genótipos nos grupos 1 e 5.

d) *Rhodotorula mucilaginosa*

Todos os isolados amplificaram de oito a 18 bandas com tamanhos que variam de 250 a 3000 pb (Fig. 19). Os isolados de *R. mucilaginosa* apresentaram semelhanças cujos valores percentuais entre 72,7-96,6%. Dois *clusters* principais foram construídos (I e II). Ao primeiro, seis grupos de identidade acima de 90% (a – f) ocorreram para 28 isolados. Para aqueles que apresentaram semelhança em mais de 90%, não houve concordância com ave nem cidade fonte, com exceção do grupo b (canário de Neves Paulista-SP). Os padrões fenotípicos não podem ser correlacionados pois todas as leveduras desta espécie apresentaram resistência aos azólicos fluconazol e itraconazol.

Figura 16 - Dendrograma obtido através dos perfis de bandas gerados com o *primer* M13 para 50 isolados de *Candida albicans*. O cálculo de similaridade foi realizado utilizando o coeficiente de Dice (UPGMA).

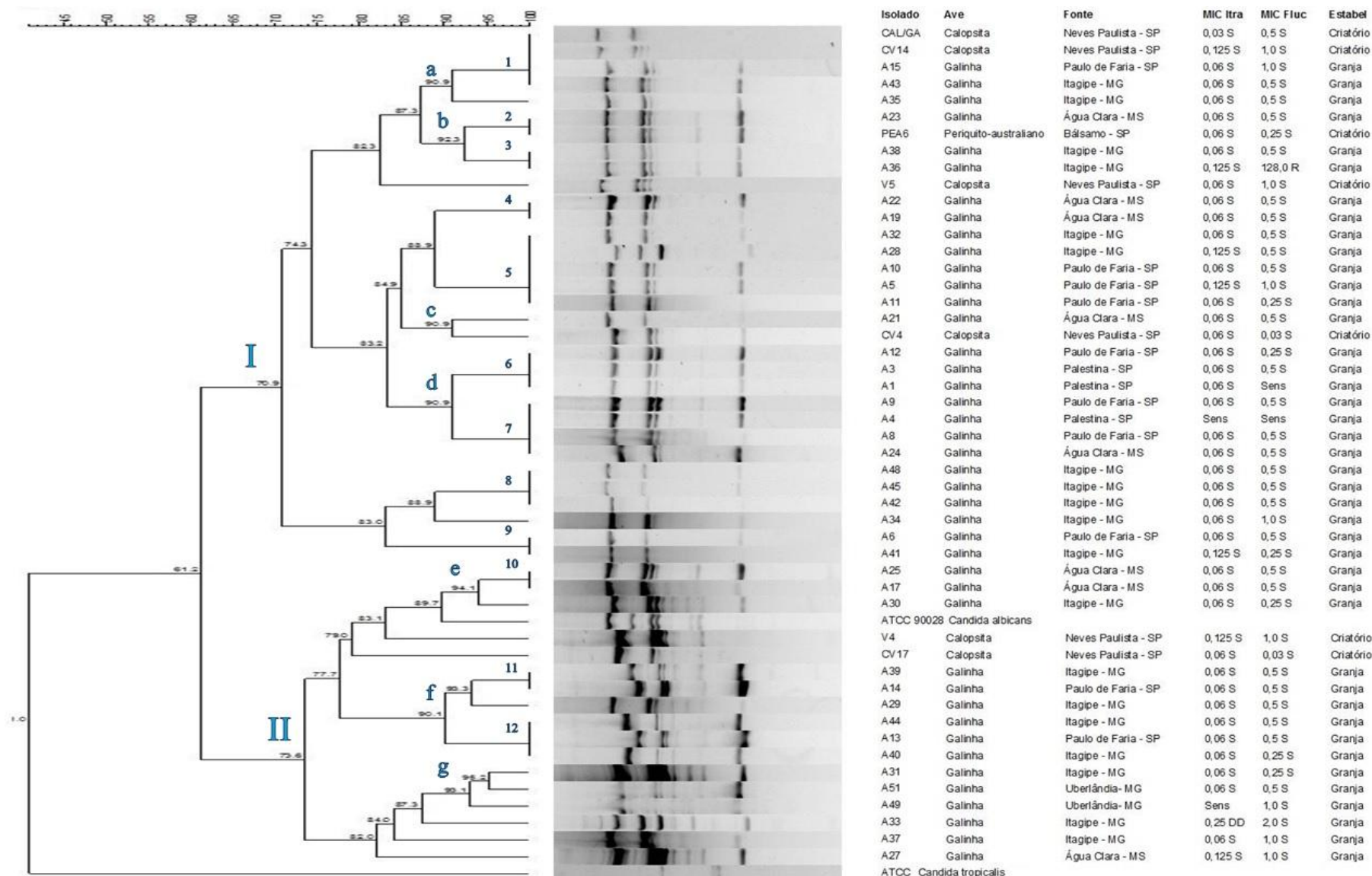
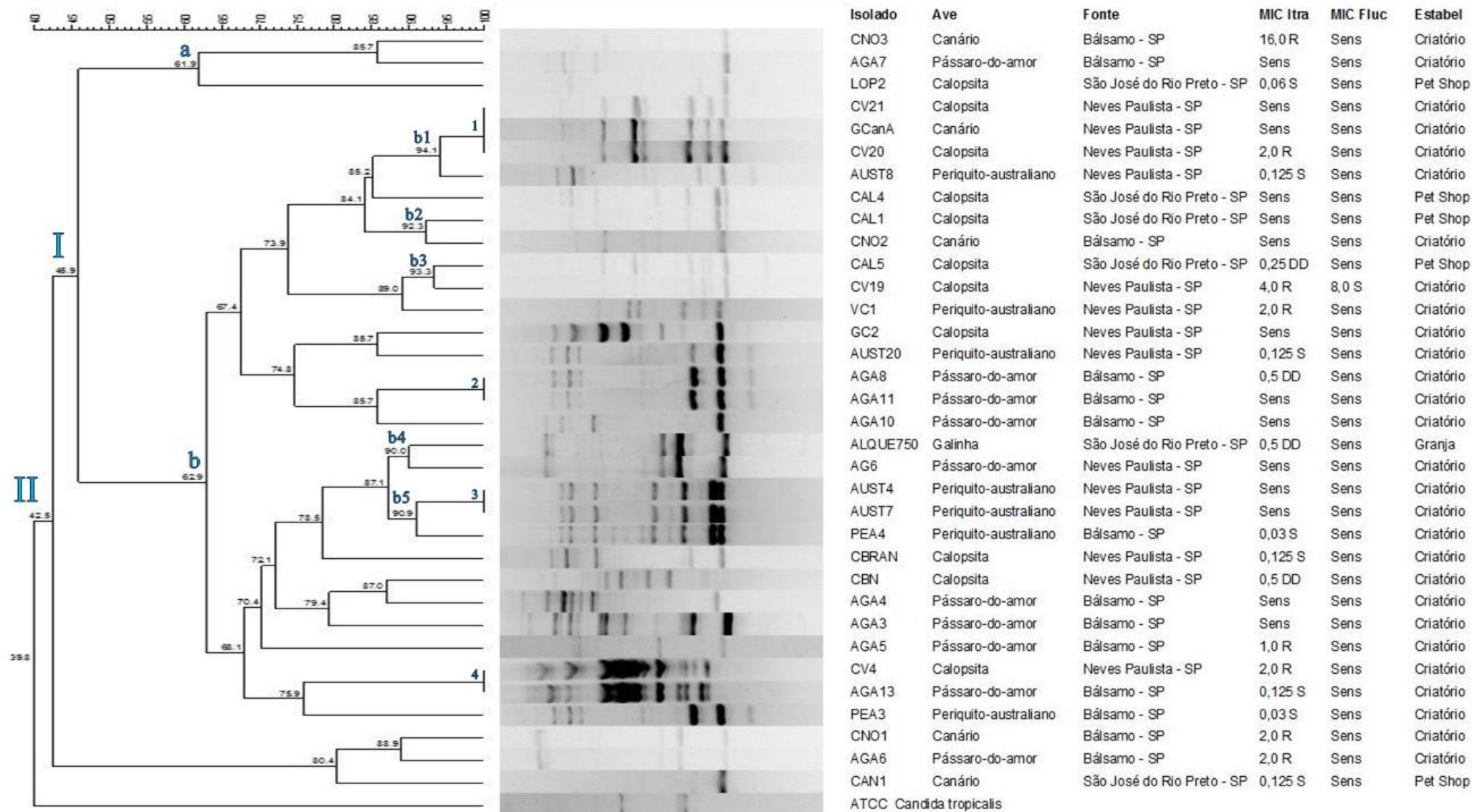
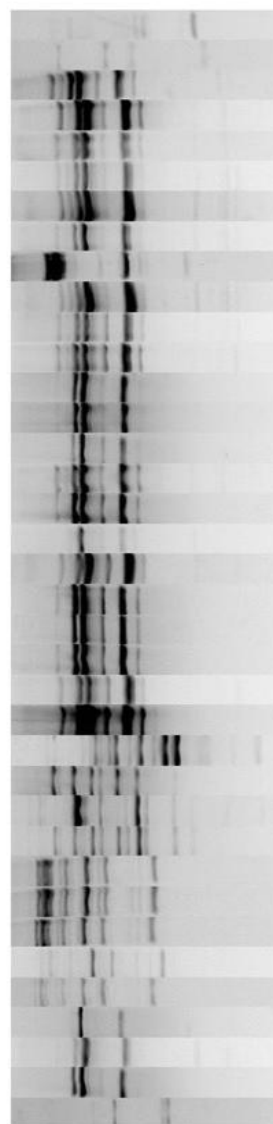
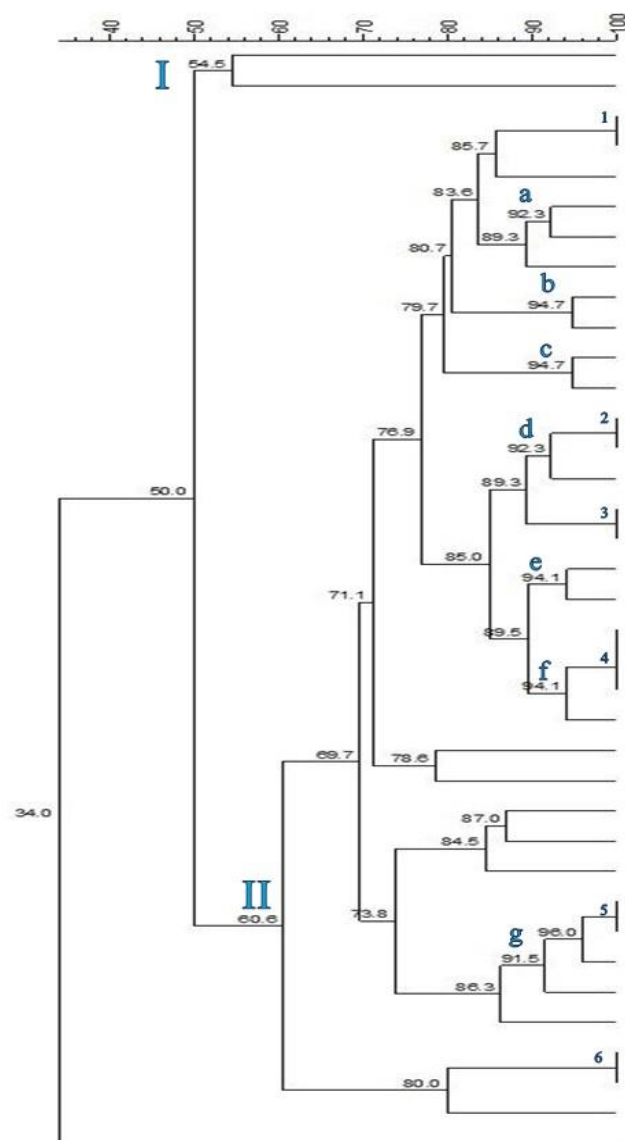


Figura 17 - Dendograma obtido através dos perfis de bandas gerados com o *primer* M13 para 34 isolados de *Candida guilliermondii*. O cálculo de similaridade foi realizado utilizando o coeficiente de Dice (UPGMA).



Fonte: o Autor.

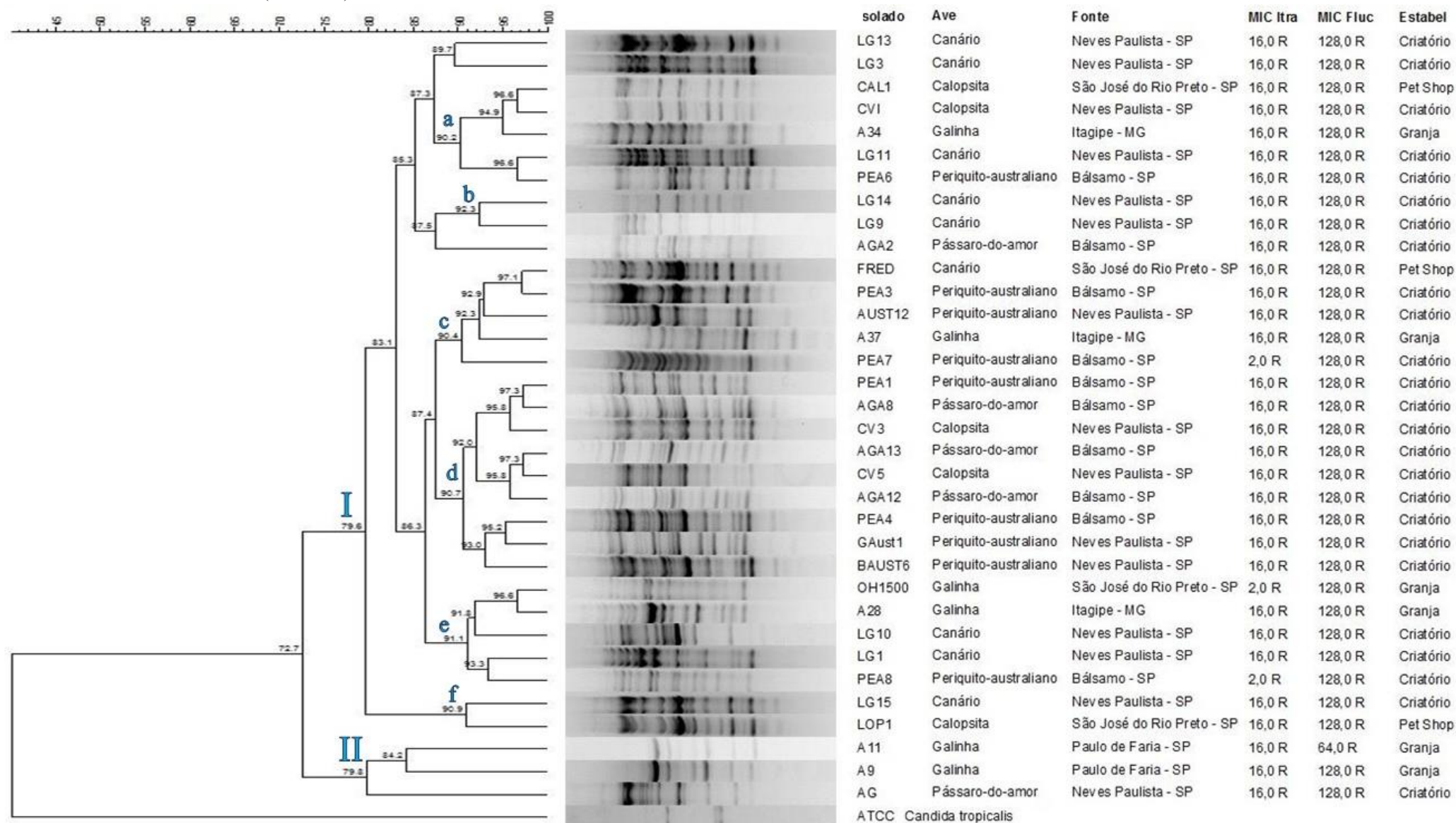
Figura 18 - Dendograma obtido através dos perfis de bandas gerados com o *primer* M13 para 36 isolados de *Candida tropicalis*. O cálculo de similaridade foi realizado utilizando o coeficiente de Dice (UPGMA).



Isolado	Ave	Fonte	MIC Itra	MIC Fluc Estabel	
P2F3	Galinha	Nova Aliança - SP	Sens	Sens	Granja
AGA7	Pássaro-do-amor	Bálsamo - SP	0,125 S	1,0 S	Criatório
A18	Galinha	Água Clara - MS	16,0 R	128,0 R	Granja
CAS	Galinha	São José do Rio Preto - SP	Sens	Sens	Granja
V6	Calopsita	Neves Paulista - SP	Sens	Sens	Criatório
CNO2	Canário	Bálsamo - SP	Sens	Sens	Criatório
P1F12	Galinha	Nova Aliança - SP	Sens	Sens	Granja
OH750	Galinha	São José do Rio Preto - SP	Sens	Sens	Granja
A3	Galinha	Palestina - SP	Sens	Sens	Granja
CV14	Calopsita	Neves Paulista - SP	Sens	2,0 S	Criatório
V17	Calopsita	Neves Paulista - SP	0,125 S	Sens	Criatório
CV10	Calopsita	Neves Paulista - SP	Sens	Sens	Criatório
ALQUE750	Galinha	São José do Rio Preto - SP	Sens	Sens	Granja
OH1500	Galinha	São José do Rio Preto - SP	Sens	Sens	Granja
GAUST1	Periquito-australiano	Neves Paulista - SP	0,5 DD	Sens	Criatório
P4F8	Galinha	Nova Aliança - SP	Sens	8,0 S	Granja
BAUST6	Periquito-australiano	Neves Paulista - SP	Sens	Sens	Criatório
CV13	Calopsita	Neves Paulista - SP	Sens	Sens	Criatório
VAgC	Pássaro-do-amor	Neves Paulista - SP	Sens	Sens	Criatório
CAL5	Calopsita	São José do Rio Preto - SP	Sens	Sens	Pet Shop
CV9	Calopsita	Neves Paulista - SP	Sens	8,0 S	Criatório
BAUST5	Periquito-australiano	Neves Paulista - SP	Sens	Sens	Criatório
PEA9	Periquito-australiano	Bálsamo - SP	Sens	Sens	Criatório
GCanP	Canário	Neves Paulista - SP	Sens	Sens	Criatório
A26	Galinha	Água Clara - MS	16,0 R	Sens	Granja
AQ750P	Galinha	São José do Rio Preto - SP	Sens	Sens	Granja
P4F7	Galinha	Nova Aliança - SP	Sens	Sens	Granja
AUST10	Periquito-australiano	Neves Paulista - SP	Sens	Sens	Criatório
A17	Galinha	Água Clara - MS	Sens	64,0 R	Granja
A13	Galinha	Paulo de Faria - SP	8,0 R	128,0 R	Granja
A2	Galinha	Palestina - SP	Sens	Sens	Granja
A50	Galinha	Uberlândia- MG	Sens	Sens	Granja
A7	Galinha	Paulo de Faria - SP	16,0 R	128,0 R	Granja
BAUST3	Periquito-australiano	Neves Paulista - SP	Sens	Sens	Criatório
PEA3	Periquito-australiano	Bálsamo - SP	Sens	Sens	Criatório
ALQUE15	Galinha	São José do Rio Preto - SP	Sens	Sens	Granja
ATCC					

Fonte: o Autor.

Figura 19 - Dendrograma obtido através dos perfis de bandas gerados com o *primer* M13 para 34 isolados de *Rhodotorula mucilaginosa*. O cálculo de similaridade foi realizado utilizando o coeficiente de Dice (UPGMA).



Fonte: o Autor.

DISCUSSÃO

7. DISCUSSÃO

As aves albergam, no trato gastrintestinal, leveduras potencialmente patogênicas para seres humanos, atuando como carreadoras e disseminadoras desses microrganismos para o ambiente (CASTELO-BRANCO, 2009). A atual pesquisa confirma este evento, pois foi observada uma alta taxa de isolamento de leveduras (89%). No entanto, a distinção dos relatos de literatura se deve ao fato de que, os valores percentuais foram menores (de 42 a 64%) dos dados aqui obtidos (MANCIANTI et al., 2001; BRILHANTE et al., 2010; FOTI et al., 2011). Tal diferença pode ser explicada, pois em nosso trabalho, para o isolamento primário, utilizamos dois meios de cultura diferentes com titulações da amostra.

As leveduras do gênero *Candida*, comuns neste e em outros estudos, têm sido caracterizadas como importante causa de infecções, e são associadas com uma alta mortalidade e morbidade (WU et al., 2012; MAGRI et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014; MERSEGUEL et al., 2015).

Em humanos, *C. albicans* tem sido a espécie comumente isolada, tanto de hospedeiros saudáveis como doentes, sendo aos últimos, causa de infecções severas superficiais ou profundas (LASS-FLÖRL, 2009; LORD et al., 2010; MICELI & LEE, 2011).

O maior isolamento de *C. albicans* em galinha concorda com o relato de Garner e cols. (2010), que a destacou como espécie mais comum em aves. De fato, ilustrados por alguns estudos, os columbiformes (KOCAN & HASENCLEVER, 1972), psitacídeos (MANCIANTI et al., 2001), avestruzes (MELVILLE et al., 2004), calopsitas (BRILHANTE et al., 2010) e rapinantes (BRILHANTE et al., 2012), constituíram aves fonte desta espécie fúngica. A vasta colonização do trato gastrointestinal por *C. albicans* e sua atividade inibitória contra outros microrganismos, podem justificar o seu maior isolamento, hipótese descrita por Brilhante e colaboradores (2010).

Nesta investigação foram isoladas outras espécies prevalentes em outras aves. Um fato interessante é o maior isolamento de *C. guilliermondii* em calopsitas, que diverge do estudo realizado com calopsitas na cidade de Fortaleza, Ceará, que caracterizou a microbiota desta mesma espécie, destacando-se como mais prevalente a

C. albicans (BRILHANTE et al., 2010). As condições climáticas de cada região, além de uma possível diferença de manejo, com diferentes alimentos fornecidos, podem estar influenciando a colonização de espécies fúngicas prevalentes.

Outras espécies não-*albicans*, classificadas como patógenos emergentes, têm sido relatadas em infecções humanas e em animais (DESNOS-OLLIVIER et al., 2008; LORD et al., 2010; MERSEGUEL et al., 2015). No presente estudo, *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis sensu lato* e *C. krusei* corresponderam às espécies presentes em fezes de aves de cativeiro. No entanto, apesar da presença destes agentes, as espécies não apresentavam sinais visíveis de infecção ou doença fúngica.

A observação da constante presença de *C. tropicalis*, comum entre todas as aves aqui analisadas (11,32% dos isolados), é fato preocupante, pois, dentro do grupo não-*albicans*, a levedura está entre as espécies mais envolvidas em infecções, com especial destaque à mortalidade pós candidemia (MAGRI et al., 2013; TORTORANO et al., 2002; ORTEGA et al., 2011).

Candida guilliermondii, na atual pesquisa, se caracterizou como a terceira espécie de levedura de maior ocorrência, comum em todas as aves. O isolamento desta espécie é mais comum a partir do ambiente, não sendo tão frequentes em isolados clínicos. No entanto, ela vem sendo reportada em infecções superficiais, tais como onicomicoses, e mais raramente em infecções invasivas (SANTOS et al., 2014, OLIVEIRA et al., 2014).

C. famata, é uma espécie de levedura considerada como comensal, não patogênica, entretanto tem sido reportada em humanos como causa de infecções cutâneas, do sistema ocular e SNC, além de casos de candidemia (NAWANGE et al., 2010; RAMOS et al., 2015). Neste estudo, esta espécie foi comum em todas as aves e a quinta de maior número de isolados.

Embora *C. krusei*, neste trabalho, tenha ocorrido em apenas um isolado, de fezes do periquito-australiano, não se exclui a importância epidemiológica, uma vez que tem emergido como um notável patógeno com resistência intrínseca aos azólicos, especialmente ao fluconazol (GILL et al., 2015). Esta levedura está envolvida com doenças severas em pacientes transplantados ou naqueles com tratamento prévio por azólicos (ORTEGA et al., 2011).

C. parapsilosis sensu lato foi isolada em poucas amostras, com apenas quatro isolados, entretanto é o mais prevalente agente patogênico emergente em seres humanos e animais dos últimos anos. É considerada a não-*albicans* mais frequentemente relatada em casos de candidíase invasiva, principalmente em indivíduos imunocomprometidos (LORD et al., 2010; MICELI & LEE, 2011; TROFA et al., 2008). Estudos a fim de determinar a distribuição de cepas a partir de fontes veterinárias e ambientais entre as três espécies do complexo *C. parapsilosis* espécies não são frequentemente destacados na literatura. Deste modo, concordando com Brilhante e colaboradores, (2013), estudos adicionais deverão ser realizados a fim de uma melhor identificação destas cepas.

O segundo gênero mais isolado em nosso estudo é *Cryptococcus*, sendo frequente o isolamento a partir de fezes de diferentes espécies aviárias. Alta é a incidência da criptococose entre as pessoas com HIV/síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), com recentes estimativas indicando que há um milhão de casos de meningite criptococócica globalmente por ano nestes pacientes (GULLO et al., 2013).

Neste estudo, embora em baixa quantidade (n=7), foi observada a presença de *C. neoformans*; esta espécie está entre os principais agentes etiológicos da criptococose, que é uma doença muito grave. É um importante patógeno, distribuído em todo o mundo e considerado importante causador de morbidade e mortalidade em indivíduos imunocomprometidos (ABID et al., 2015).

As espécies não-*neoformans* e não-*gatii*, tais como *C. albidus* e *C. laurentii*, foram as mais isoladas deste gênero, e estão emergindo em casos de infecções em humanos e animais (DANESI et al., 2014; HUANG et al. 2015).

Anteriormente considerada não patogênica, *Rhodotorula* spp surgem como patógenos oportunistas com a capacidade de colonizar e infectar pacientes suscetíveis. Estudos demonstraram que a incidência de fungemia, em humanos, causada por *Rhodotorula* era entre 0,5% e 2,3% nos EUA (LUNARDI et al., 2006) e na Europa (DE-ALMEIDA et al., 2008). Destaca-se a espécie *R. mucilaginosa*, atualmente considerada patógeno oportunista emergente (DELIGIOS et al., 2015) e que em nosso em nosso trabalho foi a 4ª espécie (10,69% dos isolados) de levedura mais isolada, sendo comum em todas as espécies de aves analisadas.

Dentre os gêneros mais isolados neste estudo, destaca-se o *Trichosporon*, cujas infecções fúngicas invasivas são consideradas como a segunda causa mais comum de fungemia por leveduras, em pacientes com doenças hematológicas malignas, atrás apenas das ocasionadas por *Candida* (MICELI & LEE, 2011). As principais espécies de *Trichosporon* causadoras de infecção são *T. asahii*, *T. asteroides*, *T. cutaneum*, *T. inkin*, *T. mucoides* e *T. ovoides* (anteriormente todas classificadas como *T. beigelii*), sendo nesta pesquisa, isolada três destas.

A suscetibilidade à anfotericina B foi comum a todos os isolados testados nesta pesquisa, incluindo *C. krusei*. Semelhante resultado foi observado por outros autores que trabalharam com espécies de *Candida*, isoladas de amostras clínicas humanas (CHEN et al., 2015; DA-MATTA et al., 2008), de animais, entre cães saudáveis (BRITO et al., 2009) e de aves, como calopsitas (SIDRIM et al., 2010), rapinantes (BRILHANTE et al., 2012), emas (BRILHANTE et al., 2013) e pombos (TEODORO et al., 2013).

Os resultados de sensibilidade para anfotericina B e cetoconazol, diferiram daqueles encontrados por Ferreira-Paim e cols. (2012) e Andrade-Silva e cols. (2012) com os isolados ambientais (fezes de aves e materiais vegetais em decomposição) de *Cryptococcus sp.* Em contraste, uma substancial resistência aos derivados azólicos foi observado, por este trabalho, entre os isolados de *Candida*, *Rhodotorula* e *Trichosporon* além de *Zygosaccharomyces spp* e *Kodamaea ohmeri*. Estes dados corroboram os da literatura, onde leveduras isoladas a partir de aves, tanto sistemas orgânicos como fezes, também apresentaram resistência a azólicos (BRILHANTE et al., 2012 e 2013; LORD et al., 2010; SIDRIM et al., 2010).

Ferreira-Paim e cols. (2012) observaram a ocorrência de resistência aos antifúngicos em cepas ambientais de *C. laurentii*, próximas de áreas hospitalares; de acordo com os autores, provavelmente, as cepas sofreram uma seleção pelo contato dos aerossóis de antifúngicos, provenientes destes ambientes, além do fato destas drogas serem comumente utilizadas na profilaxia de infecções fúngicas em aves. Portanto, o mesmo achado em nossos isolados, embora de áreas não hospitalares, deve estar ligado à exposição aos agentes antimicrobianos utilizados na profilaxia e tratamento das infecções fúngicas destas aves.

A técnica de PCR-*Fingerprinting* tem sido demonstrada ser um método rápido e preciso para a detecção de DNA polimórfico (MEYER et al., 1993). Os estudos anteriores apontavam para a relevância do RAPD e PCR-*Fingerprinting* para identificação de leveduras (ANDRADE et al., 2006; LIBKIND et al., 2003; MEYER et al., 2001; WALCZAK et al., 2007). Neste sentido, os resultados gerados pós PCR-*Fingerprinting*, com o *primer* M13, apresentaram padrões de variedade genética para as espécies, corroborando estes trabalhos.

A variabilidade genética possui importante relevância por indicar um processo de microevolução e, conseqüentemente, diferenças fenotípicas entre os microrganismos observados (ANDRADE-SILVA et al., 2012).

Os isolados obtidos nesta investigação, considerados clones por este método (e com o *primer* utilizado), não apresentaram boa concordância quanto à ave, cidade fonte e/ou fenótipo, com algumas exceções. Neste sentido, estudos complementares, com a utilização de outros *primers*, bem como técnicas mais sensíveis, como a de sequenciamento de DNA, deverão ser realizados para elucidar melhor estas relações.

CONCLUSÕES

8. CONCLUSÕES

- Foi possível o isolamento e identificação de leveduras nas fezes das cinco aves estudadas;
- *Candida albicans*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis* e *Rhodotorula mucilaginosa* correspondem às espécies prevalentes;
- O perfil fenotípico determinado mostra que as leveduras não apresentaram padrões de resistência à anfotericina B e nem ao cetoconazol, ao contrário aos demais azólicos (fluconazol e itraconazol). Portanto, é possível o isolamento de leveduras com perfil de suscetibilidade alterada à azólicos a partir dos ambientes das aves de cativeiro estudadas;
- Os padrões genéticos obtidos para as espécies mais prevalentes demonstram que, com a técnica utilizada, não apresentam uma boa correlação entre os isolados da mesma espécie aviária e cidade, com algumas exceções;
- Padrões genéticos associados com o fenótipo não foram determinados neste estudo;
- Diante disto, estas aves de cativeiro, amplamente utilizadas como *pets* ou na produção de alimentos, podem ser consideradas vetores indiretos de espécies fúngicas resistentes a antifúngicos e comprometedoras à saúde humana, especialmente em indivíduos imunocomprometidos, crianças e idosos.

BIBLIOGRAFIA CITADA

9. BIBLIOGRAFIA CITADA

Abegg, M. A. et al. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* isolated from the excreta of psittaciformes in a southern Brazilian zoological garden. **Mycopathologia**, v. 161, n. 2, p. 83-91, Feb 2006. ISSN 0301-486X.

Abid, M. B.; De Mel, S.; Limei, M. P. Disseminated Cryptococcal infection in an immunocompetent host mimicking plasma cell disorder: a case report and literature review. **Clin Case Rep**, v. 3, n. 5, p. 319-24, May 2015. ISSN 2050-0904.

Abreu, M. A. P. Passeriformes versus não Passeriformes: Comparação filogenética através da atividade da enzima lactato desidrogenase plasmática. 2009, 78p. Dissertação (Mestrado em Biologia animal). Instituto de Biologia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2009.

Allgayer, M.C.; Cziulik, M. Reprodução de psitacídeos em cativeiro. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 31, n. 3, p. 344-350, Jul-Set 2007.

Almeida, M. T. G. ; et al. . Laying Hens: Source of resistant yeasts?. In: 5th Trends in Medical Micology (TIMM), 2011, Valencia. **Mycoses: Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases**. Munchen, Germany: Wiley-blackwell. v. 54. p. 162-162, 2011.

Alvarez-Perez, S., et al. "Isolation of *Rhodotorula mucilaginosa* from skin lesions in a Southern sea lion (*Otaria flavescens*): a case report," **Veterinarin Medicina**, vol. 55, n. 6, p. 297–301, Jun 2010.

Andrade, M. J. et al. DNA typing methods for differentiation of yeasts related to dry-cured meat products. **Int J Food Microbiol**, v. 107, n. 1, p. 48-58, Mar 2006. ISSN 0168-1605.

Andrade-Silva, L. et al. RAPD analysis with the primer L15996 of Brazilian clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* isolates. **Mycopathologia**, v. 174, n. 1, p. 53-9, Jul 2012. ISSN 1573-0832.

Andrighetto, C. et al. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) PCR for the identification of yeasts isolated from dairy products. **Lett Appl Microbiol**, v. 30, n. 1, p. 5-9, Jan 2000. ISSN 0266-8254.

Aruo, S. K. Necrotizing cutaneous rhodotorulosis in chickens in Uganda. **Avian Dis**, v. 24, n. 4, p. 1038-43, 1980 Oct-Dec 1980. ISSN 0005-2086.

Associação Brasileira de Proteína Animal – ABPA. História da avicultura no Brasil. 2014. Disponível em: <http://www.ubabef.com.br/a_avicultura_brasileira/historia_da_avicultura_no_brasil> Acesso em: 15 set. 2014.

Averbuch, D. et al. Fungemia in a cancer patient caused by fluconazole-resistant *Cryptococcus laurentii*. **Med Mycol**, v. 40, n. 5, p. 479-84, Oct 2002. ISSN 1369-3786.

Baka, S.; Tsouma, I.; Kouskouni, E. Fatal lower limb infection by *Trichosporon asahii* in an immunocompetent patient. **Acta Dermatovenereol Croat**, v. 21, n. 4, p. 241-4, Dec 2013. ISSN 1847-6538.

Banerjee, P. et al. *Cryptococcus laurentii* fungemia. **Indian J Med Microbiol**, v. 31, n. 1, p. 75-7, 2013 Jan-Mar 2013. ISSN 1998-3646.

Barbosa, C. et al. Anti-fungal treatment with azole compounds for uncomplicated vulvovaginal candidiasis Derivados azólicos no tratamento da Candidíase vulvovaginal não Complicada. **Acta Obstet Ginecol Port**, v. 6, n. 3, p. 118-123, 2012.

Barbosa, F. J. V. et al. Sistema alternativo de criação de galinhas caipiras. 1ª Ed. Emprapa Meio-Norte. Sistemas de produção 04. 68 p. Jul, 2007. ISSN 1678-0256. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/80710/1/sistemaproducao-4.PDF>>.

Beck-Sagué, C.; Jarvis, W. R. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. **J Infect Dis**, v. 167, n. 5, p. 1247-51, May 1993. ISSN 0022-1899.

Beemer, A. M.; Schneerson-Porat, S.; Kuttin, E. S. *Rhodotorula mucilaginosa* dermatitis on feathered parts of chickens: an epizootic on a poultry farm. **Avian Dis**, v. 14, n. 2, p. 234-9, May 1970. ISSN 0005-2086.

Bernardo, F. M.; Martins, H. M.; Martins, M. L. A survey of mycotic otitis externa of dogs in Lisbon. **Rev Iberoam Micol**, v. 15, n. 3, p. 163-5, Sep 1998. ISSN 1130-1406.

Birds in backyards–bird finder budgerigar (a) **Birdlife Austrália**. Disponível em: <<http://www.birdsinbackyards.net/species/Melopsittacus-undulatus>>. Acesso em: 3 mar. 2015.

Birds in backyards–bird finder cockatiel (b). **Birdlife Austrália**. Disponível em: <<http://birdsinyard.net/finder/display.cfm?id549>>. Acesso em: 3 mar. 2015.

Bolano, A. et al. Rapid methods to extract DNA and RNA from *Cryptococcus neoformans*. **FEMS Yeast Res**, v. 1, n. 3, p. 221-4, Dec 2001. ISSN 1567-1356.

Boseret, G. et al. Zoonoses in pet birds: review and perspectives. **Vet Res**, v. 44, p. 36, 2013. ISSN 1297-9716.

Bourgeois, N. et al. Antifungal susceptibility of 205 *Candida* spp. isolated primarily during invasive Candidiasis and comparison of the Vitek 2 system with the CLSI broth microdilution and Etest methods. **J Clin Microbiol**, v. 48, n. 1, p. 154-61, Jan 2010. ISSN 1098-660X.

Brilhante, R. S. et al. Characterization of the gastrointestinal yeast microbiota of cockatiels (*Nymphicus hollandicus*): a potential hazard to human health. **J Med Microbiol**, v. 59, n. Pt 6, p. 718-23, Jun 2010. ISSN 1473-5644.

Brilhante, R. S. et al. Detection of *Candida* species resistant to azoles in the microbiota of rheas (*Rhea americana*): possible implications for human and animal health. **J Med Microbiol**, v. 62, n. Pt 6, p. 889-95, Jun 2013. ISSN 1473-5644.

Brilhante, R. S. et al. Emergence of azole-resistant *Candida albicans* in small ruminants. **Mycopathologia**, Apr 2015. ISSN 1573-0832.

Brilhante, R. S. et al. Yeast microbiota of raptors: a possible tool for environmental monitoring. **Environ Microbiol Rep**, v. 4, n. 2, p. 189-93, Apr 2012. ISSN 1758-2229.

Brito, E. H. et al. The anatomical distribution and antimicrobial susceptibility of yeast species isolated from healthy dogs. **Vet J**, v. 182, n. 2, p. 320-6, Nov 2009. ISSN 1532-2971.

Brito, E. H. S. et al. Candidose na medicina veterinária: um enfoque micológico, clínico e terapêutico. **Ciênc Rural**, v. 39, n. 9, p. 2655-2664. Dec 2009. ISSN 1678-4596.

Broich, A. Agapornis sanos y felices. Manuales Mascotas en casa. Hispano Europea. 3^a ed., p. 64, 2004. ISBN: 978-84-255-1577-4.

Burnik, C. et al. Acute respiratory distress syndrome due to *Cryptococcus albidus* pneumonia: case report and review of the literature. **Med Mycol**, v. 45, n. 5, p. 469-73, Aug 2007. ISSN 1369-3786.

Butchart, S. H. M. Red List Indices to measure the sustainability of species use and impacts of invasive alien species. **Bird Conservation International**, v. 18, n. S1, p. 245-262, Set 2008. ISSN 1474-0001.

Cadez, N. et al. Molecular identification and genetic diversity within species of the genera *Hanseniaspora* and *Kloeckera*. **FEMS Yeast Res**, v. 1, n. 4, p. 279-89, Jan 2002. ISSN 1567-1356.

Cafarchia, C. et al. Occurrence of yeasts in cloacae of migratory birds. **Mycopathologia**, v. 161, n. 4, p. 229-34, Apr 2006a. ISSN 0301-486X.

Cafarchia, C. et al. Role of birds of prey as carriers and spreaders of *Cryptococcus neoformans* and other zoonotic yeasts. **Med Mycol**, v. 44, n. 6, p. 485-92, Sep 2006b. ISSN 1369-3786.

Calista, F. et al. *Cryptococcus laurentii* Diarrhea in a Neoplastic Patient. **Case Rep Oncol Med**, v. 2015, p. 216458, 2015. ISSN 2090-6706.

Campos, F. L. et al. Isolamento de *Cryptococcus neoformans*, *C. gattii* e *C. laurentii* de sistema nervoso central de cães na cidade do Rio de Janeiro. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 4, p. 351-5, Aug 2009. ISSN 1679-9216.

Cantoni, D. Canário: guia prático do criador. p.4 Coleção Pet Criador. Lebooks Editora e Livraria, 35 páginas. 2013. ISBN: 85.668.3398-8.

Caruso, M. et al. Typing of *Saccharomyces cerevisiae* and *Kloeckera apiculata* strains from Aglianico wine. **Lett Appl Microbiol**, v. 34, n. 5, p. 323-8, 2002. ISSN 0266-8254.

Carvalho, T. S. G. et al. Influência da temperatura elevada no consumo e temperatura corporal de calopsitas (*Nymphicus hollandicus*) mantidas em cativeiro. Anais do XXII Congresso de pós-graduação da UFLA, 2013. Disponível em: <http://www.apg.ufla.br/resumos/resumo_2013/anais/resumo_9_137_1.pdf> Acesso em: 15 set. 2014.

Casali, A. K. et al. Molecular typing of clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* isolates in the Brazilian state Rio Grande do Sul. **FEMS Yeast Res**, v. 3, n. 4, p. 405-15, Jun 2003. ISSN 1567-1364.

Castellá, G.; Abarca, M. L.; Cabañes, F. J. Cryptococcosis and pets. **Rev Iberoam Micol**, v. 25, n. 1, p. S19-24, Mar 2008. ISSN 1130-1406.

Castanón-Olivares, L. R. & López-Martinez, R. Isolation of *Cryptococcus neoformans* from pigeon (*Columba livia*) droppings in Mexico City. **Mycoses**, v. 37, n. 9-10, p. 325-7, Oct. 1994. ISSN 1439-0507.

Castelo-Branco, D.S.C.M. Leveduras isoladas do trato gastrointestinal de calopsitas (*Nymphicus hollandicus*): determinação da microbiota e análise fenotípica. 2009, 86p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, 2009.

Chae, H. S. et al. Classification of *Cryptococcus neoformans* and yeast-like fungus isolates from pigeon droppings by colony phenotyping and ITS genotyping and their seasonal variations in Korea. **Avian Dis**, v. 56, n. 1, p. 58-64, Mar 2012. ISSN 0005-2086.

Chen, C. Y. et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of patients with candidaemia due to *Candida parapsilosis* sensu lato species at a medical centre in Taiwan, 2000-12. **J Antimicrob Chemother**, v. 70, n. 5, p. 1531-8, May 2015. ISSN 1460-2091.

Chen, S. C.; Sorrell, T. C. Antifungal agents. **Med J Aust**, v. 187, n. 7, p. 404-9, Oct 2007. ISSN 0025-729X.

Cheng, M. F. et al. *Cryptococcus laurentii* fungemia in a premature neonate. **J Clin Microbiol**, v. 39, n. 4, p. 1608-11, Apr 2001. ISSN 0095-1137.

Chryssanthou, E. et al. Occurrence of yeasts in faecal samples from Antarctic and South American seabirds. **Mycoses**, v. 54, n. 6, p. e811-5, Nov 2011. ISSN 1439-0507.

Cleveland, K. O.; Gelfand, M. S.; Rao, V. Posaconazole as successful treatment for fungemia due to *Cryptococcus albidus* in a liver transplant recipient. **QJM**, v. 106, n. 4, p. 361-2, Apr 2013. ISSN 1460-2393.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts: Approved Standard. CLSI Document M44-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2004.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts: Approved Standard. CLSI Document M27-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

Codazza, D.; Bertoldini, G.; Sampieri, G. Genital infection caused by *Cryptococcus albidus* in the horse. **Folia Vet Lat**, v. 3, n. 2, p. 339-42, 1973 Apr-Jun 1973. ISSN 0301-0724.

Colombo, T. E. Relação fenotípica e genotípica entre isolados clínicos e ambientais de *Candida* spp em dois hospitais de São José do Rio Preto, SP. 2010, 125p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia). Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, 2010.

Conti, F. et al. Acute longitudinal myelitis following *Cryptococcus laurentii* pneumonia in a patient with systemic lupus erythematosus. **Lupus**, Oct 2014. ISSN 1477-0962.

Costa, A. K. et al. Urban pigeons (*Columba livia*) as a potential source of pathogenic yeasts: a focus on antifungal susceptibility of *Cryptococcus* strains in Northeast Brazil. **Mycopathologia**, v. 169, n. 3, p. 207-13, Mar 2010. ISSN 1573-0832.

Cragg, J.; Clayton, Y. M. Bacterial and fungal flora of seagull droppingsd in Jersey. **J Clin Pathol**, v. 24, n. 4, p. 317-9, May 1971. ISSN 0021-9746.

Criseo, G. et al. Evidence of canary droppings as an important reservoir of *Cryptococcus neoformans*. **Zentralbl Bakteriologie**, v. 282, n. 3, p. 244-54, Apr 1995. ISSN 0934-8840.

Custis, P. H.; Haller, J. A.; de Juan, E. An unusual case of cryptococcal endophthalmitis. **Retina**, v. 15, n. 4, p. 300-4, 1995. ISSN 0275-004X.

Da Cunha, T.; Lusins, J. *Cryptococcus albidus* meningitis. **South Med J**, v. 66, n. 11, p. 1230 passim, Nov 1973. ISSN 0038-4348.

Da Matta, D. A. et al. Antifungal susceptibility of 1000 *Candida* bloodstream isolates to 5 antifungal drugs: results of a multicenter study conducted in São Paulo, Brazil, 1995-2003. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 57, n. 4, p. 399-404, Apr 2007. ISSN 0732-8893.

Da Silva-Rocha, W. P. et al. *Candida* species distribution, genotyping and virulence factors of *Candida albicans* isolated from the oral cavity of kidney transplant recipients of two geographic regions of Brazil. **BMC Oral Health**, v. 14, p. 20, 2014. ISSN 1472-6831.

Danesi, P. et al. MALDI-TOF MS for the identification of veterinary non-*C. neoformans*-*C. gattii* *Cryptococcus* spp. isolates from Italy. **Med Mycol**, v. 52, n. 6, p. 659-66, Aug 2014. ISSN 1460-2709.

De Almeida, G. M. et al. *Rhodotorula* spp. isolated from blood cultures: clinical and microbiological aspects. **Med Mycol**, v. 46, n. 6, p. 547-56, Sep 2008. ISSN 1369-3786.

De Castro, L. E. et al. *Cryptococcus albidus* keratitis after corneal transplantation. **Cornea**, v. 24, n. 7, p. 882-3, Oct 2005. ISSN 0277-3740.

De Hoog, G. S.; Guarro, J., Gené, J., Figueiras, M. J., 2000. Atlas of Clinical Fungi. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmiscultures.

De Rosa, F. G. et al. Mortality in patients with early- or late-onset candidaemia. **J Antimicrob Chemother**, v. 68, n. 4, p. 927-35, Apr 2013. ISSN 1460-2091.

Deak, T.; Chen, J.; Beuchat, L. R. Molecular characterization of *Yarrowia lipolytica* and *Candida zeylanoides* isolated from poultry. **Appl Environ Microbiol**, v. 66, n. 10, p. 4340-4, Oct 2000. ISSN 0099-2240.

Decostere, A. et al. First report on *Cryptococcus laurentii* associated with feather loss in a glossy starling (*Lamprolaima chalybaeus*). **Avian Pathol**, v. 32, n. 3, p. 309-11, Jun 2003. ISSN 0307-9457.

Del Palacio, A.; Villar, J.; Alhambra, A. [Epidemiology of invasive candidiasis in pediatric and adult populations]. **Rev Iberoam Micol**, v. 26, n. 1, p. 2-7, Mar 2009. ISSN 1130-1406.

Deligios, M. et al. Draft Genome Sequence of *Rhodotorula mucilaginosa*, an Emergent Opportunistic Pathogen. **Genome Announc**, v. 3, n. 2, 2015. ISSN 2169-8287.

Desbrosse, A. M. *Cryptococcus mycotic* keratitis in a horse. **Pratique Vétérinaire Equine**, v. 28, p. 147-8, 1996.

Desnos-Ollivier, M. et al. *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*), a rare human fungal pathogen often misidentified as *Pichia guilliermondii* (*Candida guilliermondii*). **J Clin Microbiol**, v. 46, n. 10, p. 3237-42, Oct 2008. ISSN 1098-660X.

Ding, C. H. et al. Prevalence of *albicans* and non-*albicans* candiduria in a Malaysian medical centre. **J Pak Med Assoc**, v. 64, n. 12, p. 1375-9, Dec 2014. ISSN 0030-9982.

Dynowska, M. et al. Epidemiological importance of yeasts isolated from beak and cloaca of healthy Charadriiformes. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 59, n. 1, p. 65–9, Apr, 2015. ISSN 2300-3235.

Dynowska, M. et al. Potentially pathogenic yeast isolated from the throat and cloaca of an Arctic colonial seabird: the Little auk (*Alle alle*). **Polar Biol**, v. 36, p. 343-348, Mar 2013. ISSN 2300-3235.

Eekeren, N. V.; et al. Criação de galinhas em pequena escala. 3ª ed. p. 5. 100 páginas Digigrafi Wageningen. ISBN 978-92-9081-349-1.

Ellis, D. H.; Pfeiffer, T. J. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. **J Clin Microbiol**, v. 28, n. 7, p. 1642-4, Jul 1990. ISSN 0095-1137.

Evans, E. E. Zoonotic diseases of common pet birds: psittacine, passerine, and columbiform species. **Vet Clin North Am Exot Anim Pract**, v. 14, n. 3, p. 457-76, vi, Sep 2011. ISSN 1558-4232.

Faria, R. O. et al. Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in pigeon excrement in the city of Pelotas, State of Rio Grande do Sul. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 43, n. 2, p. 198-200, 2010 Mar-Apr 2010. ISSN 1678-9849.

Favalessa, O. C.; Martins, M. o. A.; Hahn, R. C. Mycological aspects and susceptibility in vitro the yeast of the genus *Candida* from HIV-positive patients in the State of Mato Grosso. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 43, n. 6, p. 673-7, 2010 Nov-Dec 2010. ISSN 1678-9849.

Felipini, D. Agapórnis: guia prático do criador. p.6 Coleção Pet Criador. Lebooks Editora e Livraria, 37 páginas. 2012.

Ferreira, A. S. et al. Genotypic diversity of environmental *Cryptococcus neoformans* isolates from Northern Portugal. **Mycoses**, v. 57, n. 2, p. 98-104, Feb 2014. ISSN 1439-0507.

Ferreira, F. V. V.. As Galinhas Incontáveis. Tupis, Europeus e Aves Domésticas na Conquista no Brasil. *Journal de La Société des Américanistes*, v. 98, n.2, p. 97-140. Dec 2012.

Ferreira-Paim, K. et al. Antifungal susceptibility, enzymatic activity, PCR-fingerprinting and ITS sequencing of environmental *Cryptococcus laurentii* isolates from Uberaba, Minas Gerais, Brazil. **Mycopathologia**, v. 174, n. 1, p. 41-52, Jul 2012. ISSN 1573-0832.

Filiú, W. F. et al. [Avian habitats as sources of *Cryptococcus neoformans* in the city of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil]. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 35, n. 6, p. 591-5, 2002 Nov-Dec 2002. ISSN 0037-8682.

Foti, M. et al. Pathogenic microorganisms carried by migratory birds passing through the territory of the island of Ustica, Sicily (Italy). **Avian Pathol**, v. 40, n. 4, p. 405-9, Aug 2011. ISSN 1465-3338.

Francesca, N. et al. Yeasts vectored by migratory birds collected in the Mediterranean island of Ustica and description of *Phaffomyces usticensis* f.a. sp. nov., a new species related to the cactus ecoclade. **FEMS Yeast Res**, v. 14, n. 6, p. 910-21, Sep 2014. ISSN 1567-1364.

Freitas, E. B. et al. Anatomical and physiological female reproductive system of birds in the formation of eggs – Review of literature. **Rev Cient Eletronic Med Vet.**, v. 6, n. 17, Jul 2015. ISSN: 1679-7353.

Furman-Kuklińska, K.; Naumnik, B.; Myśliwiec, M. Fungaemia due to *Cryptococcus laurentii* as a complication of immunosuppressive therapy-a case report. **Adv Med Sci**, v. 54, n. 1, p. 116-9, 2009. ISSN 1898-4002.

Garelick, J. M. et al. Scleral ulceration caused by *Cryptococcus albidus* in a patient with acquired immune deficiency syndrome. **Cornea**, v. 23, n. 7, p. 730-1, Oct 2004. ISSN 0277-3740.

Garner, C. D. et al. Molecular identification of veterinary yeast isolates by use of sequence-based analysis of the D1/D2 region of the large ribosomal subunit. **J Clin Microbiol**, v. 48, n. 6, p. 2140-6, Jun 2010. ISSN 1098-660X.

Gartrell, B. D.; Rogers, L.; Alley, M. R. Eosinophilic dermatitis associated with *Trichosporon asahii* in a cockatiel (*Nymphicus hollandicus*). **J Avian Surgery**, v. 19, n. 1, p. 25-9, Mar 2005.

Gill, K. et al. Novel synthetic anti-fungal tripeptide effective against *Candida krusei*. **Indian J Med Microbiol**, v. 33, n. 1, p. 110-6, 2015 Jan-Mar 2015. ISSN 1998-3646.

Gluck, J. L.; Myers, J. P.; Pass, L. M. Cryptococcemia due to *Cryptococcus albidus*. **South Med J**, v. 80, n. 4, p. 511-3, Apr 1987. ISSN 0038-4348.

Guerzoni, M. E. et al. Variability of the lipolytic activity in *Yarrowia lipolytica* and its dependence on environmental conditions. **Int J Food Microbiol**, v. 69, n. 1-2, p. 79-89, Sep 2001. ISSN 0168-1605.

Gullo, F. P. et al. Cryptococcosis: epidemiology, fungal resistance, and new alternatives for treatment. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 32, n. 11, p. 1377-91, Nov 2013. ISSN 1435-4373.

Harris, J.; Lockhart, S.; Chiller, T. *Cryptococcus gattii*: where do we go from here? **Med Mycol**, v. 50, n. 2, p. 113-29, Feb 2012. ISSN 1460-2709.

Hedayati, M. T. et al. *Cryptococcus neoformans* isolation from swallow (*Hirundo rustica*) excreta in Iran. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, São Paulo, v. 53, n. 3, p. 125-127, June 2011.

Hoang, J. K.; Burruss, J. Localized cutaneous *Cryptococcus albidus* infection in a 14-year-old boy on etanercept therapy. **Pediatr Dermatol**, v. 24, n. 3, p. 285-8, 2007 May-Jun 2007. ISSN 0736-8046.

Horowitz, I. D.; Blumberg, E. A.; Krevolin, L. *Cryptococcus albidus* and mucormycosis empyema in a patient receiving hemodialysis. **South Med J**, v. 86, n. 9, p. 1070-2, Sep 1993. ISSN 0038-4348.

Hospenthal, D. R.; Murray, C. K.; Rinaldi, M. G. The role of antifungal susceptibility testing in the therapy of candidiasis. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 48, n. 3, p. 153-60, Mar 2004. ISSN 0732-8893.

Huang, Y. H. et al. Early Diagnosis and Successful Treatment of *Cryptococcus albidus* Keratitis: A Case Report and Literature Review. **Medicine (Baltimore)**, v. 94, n. 19, p. 1-4, May 2015. ISSN 1536-5964.

Hubálek, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. **J Wildl Dis**, v. 40, n. 4, p. 639-59, Oct 2004. ISSN 0090-3558.

Hunter, P. R.; Fraser, C. A. Application of the theory of adaptive polymorphism to the ecology and epidemiology of pathogenic yeasts. **Appl Environ Microbiol**, v. 56, n. 7, p. 2219-22, Jul 1990. ISSN 0099-2240.

Jiang, C. et al. Mechanisms of azole resistance in 52 clinical isolates of *Candida tropicalis* in China. **J Antimicrob Chemother**, v. 68, n. 4, p. 778-85, Apr 2013. ISSN 1460-2091.

Johnson, L. B.; Bradley, S. F.; Kauffman, C. A. Fungaemia due to *Cryptococcus laurentii* and a review of non-neoformans cryptococcaemia. **Mycoses**, v. 41, n. 7-8, p. 277-80, 1998 Sep-Oct 1998. ISSN 0933-7407.

Júnior, A. G.; Grigoletto, A. R. L.; Fregonezi, P. A. G. Candidíase Vaginal: uma questão de educação em saúde. **Braz J Health**, v. 2, n. 2, Mai-Dec 2011. ISSN 2177-5273.

Kadota, K. et al. Granulomatous epididymitis related to *Rhodotorula glutinis* infection in a dog. **Vet Pathol**, v. 32, n. 6, p. 716-8, Nov 1995. ISSN 0300-9858.

Kamalam, A.; Yesudian, P.; Thambiah, A. S. Cutaneous infection by *Cryptococcus laurentii*. **Br J Dermatol**, v. 97, n. 2, p. 221-3, Aug 1977. ISSN 0007-0963.

Kanafani, Z. A.; Perfect, J. R. Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact. **Clin Infect Dis**, v. 46, n. 1, p. 120-8, Jan 2008. ISSN 1537-6591.

Kano, R. et al. First case of feline systemic *Cryptococcus albidus* infection. **Med Mycol**, v. 46, n. 1, p. 75-7, Feb 2008. ISSN 1369-3786.

Kano, R.; Hosaka, S.; Hasegawa, A. First isolation of *Cryptococcus magnus* from a cat. **Mycopathologia**, v. 157, n. 3, p. 263-4, Apr 2004. ISSN 0301-486X.

Kawakita, S.; Vanuden, N. Occurrence and population densities of yeast species in the digestive tracts of gulls and terns. **J Gen Microbiol**, v. 39, p. 125-9, Apr 1965. ISSN 0022-1287.

Khawcharoenporn, T. et al. Evaluation of cryptococcus laurentii meningitis in a patient with HIV infection: a case report and review of the literature. **Hawaii Med J**, v. 65, n. 9, p. 260-3, Sep 2006. ISSN 0017-8594.

Kielstein, P. et al. Occurrence of Cryptococcus spp. in excreta of pigeons and pet birds. **Mycoses**, v. 43, n. 1-2, p. 7-15, 2000. ISSN 0933-7407.

Kiertiburanakul, S. et al. Cryptococcus laurentii fungaemia: a case report. **J Infect Dis Antimicrob Agents**, v. 18, n. 3, p. 112-4, Sep-Dec 2001.

Kim, H. A.; Hyun, M.; Ryu, S. Y. Catheter-Associated Rhodotorula mucilaginosa Fungemia in an Immunocompetent Host. **Infect Chemother**, v. 45, n. 3, p. 339-42, Sep 2013. ISSN 2093-2340.

Kocan, R. M.; Hasenclever, H. F. Normal yeast flora of the upper digestive tract of some wild columbids. **J Wildl Dis**, v. 8, n. 4, p. 365-8, Oct 1972. ISSN 0090-3558.

Kon, A. S. et al. Consenso em criptococose - 2008. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 41, p. 524-544, Set-Out, 2008.

Kordosis, T. et al. First report of Cryptococcus laurentii meningitis and a fatal case of Cryptococcus albidus cryptococcaemia in AIDS patients. **Med Mycol**, v. 36, n. 5, p. 335-9, Oct 1998. ISSN 1369-3786.

Krajden, S. et al. Normally saprobic cryptococci isolated from Cryptococcus neoformans infections. **J Clin Microbiol**, v. 29, n. 9, p. 1883-7, Sep 1991. ISSN 0095-1137.

Krcméry, V.; Kunova, A.; Madiak, J. Nosocomial Cryptococcus laurentii fungemia in a bone marrow transplant patient after prophylaxis with ketoconazole successfully treated with oral fluconazole. **Infection**, v. 25, n. 2, p. 130, 1997 Mar-Apr 1997. ISSN 0300-8126.

Krumholz, R. A. Pulmonary cryptococcosis. A case due to Cryptococcus albidus. **Am Rev Respir Dis**, v. 105, n. 3, p. 421-4, Mar 1972. ISSN 0003-0805.

Kulkarni, A.; Sinha, M.; Anandh, U. Primary cutaneous cryptococcosis due to Cryptococcus laurentii in a renal transplant recipient. **Saudi J Kidney Dis Transpl**, v. 23, n. 1, p. 102-5, Jan 2012. ISSN 1319-2442.

Kunova, A.; Krcméry, V. Fungaemia due to thermophilic cryptococci: 3 cases of Cryptococcus laurentii bloodstream infections in cancer patients receiving antifungals. **Scand J Infect Dis**, v. 31, n. 3, p. 328, 1999. ISSN 0036-5548.

Kwamin, F. et al. Distribution of *Candida* species among HIV-positive patients with oropharyngeal candidiasis in Accra, Ghana. **J Infect Dev Ctries**, v. 7, n. 1, p. 41-5, Jan 2013. ISSN 1972-2680.

Labrecque, O.; Sylvestre, D.; Messier, S. Systemic *Cryptococcus albidus* infection in a Doberman Pinscher. **J Vet Diagn Invest**, v. 17, n. 6, p. 598-600, Nov 2005. ISSN 1040-6387.

Lagrou, K. et al. Zoonotic transmission of *Cryptococcus neoformans* from a magpie to an immunocompetent patient. **J Intern Med**, v. 257, n. 4, p. 385-8, Apr 2005. ISSN 0954-6820.

Lass-Flörl, C. The changing face of epidemiology of invasive fungal disease in Europe. **Mycoses**, v. 52, n. 3, p. 197-205, May 2009. ISSN 1439-0507.

Latouche, G. N. et al. Comparison of use of phenotypic and genotypic characteristics for identification of species of the anamorph genus *Candida* and related teleomorph yeast species. **J Clin Microbiol**, v. 35, n. 12, p. 3171-80, Dec 1997. ISSN 0095-1137.

Lazera, M. S. et al. Possible primary ecological niche of *Cryptococcus neoformans*. **Med Mycol**, v. 38, n. 5, p. 379-83, Oct 2000. ISSN 1369-3786.

Lee, Y. A. et al. First report of *Cryptococcus albidus*--induced disseminated cryptococcosis in a renal transplant recipient. **Korean J Intern Med**, v. 19, n. 1, p. 53-7, Mar 2004. ISSN 1226-3303.

Lester, S. J. et al. Cryptococcosis: update and emergence of *Cryptococcus gattii*. **Vet Clin Pathol**, v. 40, n. 1, p. 4-17, Mar 2011. ISSN 1939-165X.

Libkind, D. et al. Molecular characterization of carotenogenic yeasts from aquatic environments in Patagonia, Argentina. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 84, n. 4, p. 313-22, 2003. ISSN 0003-6072.

Lin, S. R. et al. Isolation of *Cryptococcus albidus* var. *albidus* in patient with pemphigus foliaceus. **Gaoxiong Yi Xue Ke Xue Za Zhi**, v. 5, n. 2, p. 126-8, Feb 1989. ISSN 0257-5655.

Liu, Y. et al. *Cryptococcus albidus* encephalitis in newly diagnosed HIV-patient and literature review. **Med Mycol Case Rep**, v. 3, p. 8-10, Jan 2014. ISSN 2211-7539.

Loison, J. et al. First report of *Cryptococcus albidus* septicaemia in an HIV patient. **J Infect**, v. 33, n. 2, p. 139-40, Sep 1996. ISSN 0163-4453.

Lopes, J. C. O. Técnico em Avicultura, 1ª ed. Colégio Agrícola de Florianópolis, PI. II. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, p. 94, 2011.

Lord, A. T. et al. Multidrug resistant yeasts in synanthropic wild birds. **Ann Clin Microbiol Antimicrob**, v. 9, p. 11, 2010. ISSN 1476-0711.

Lugarini, C. et al. *Cryptococcus neoformans* Isolated from Passerine and Psittacine bird excreta in the state of Paraná, Brazil. **Mycopathologia**, v. 166, n. 2, p. 61-9, Aug 2008. ISSN 0301-486X.

Lunardi, L. W. et al. Epidemiology and outcome of *Rhodotorula* fungemia in a tertiary care hospital. **Clin Infect Dis**, v. 43, n. 6, p. e60-3, Sep 2006. ISSN 1537-6591.

Lynch, J. P. et al. *Cryptococcus laurentii* lung abscess. **Am Rev Respir Dis**, v. 123, n. 1, p. 135-8, Jan 1981. ISSN 0003-0805.

Madrid, I. S. et al. Mixed fungal infection by *Sporothrix achenckii* and *Cryptococcus albidus* in a dog. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 4, p.1-5, Jul 2011. ISSN 1679-9216.

Magri, M. M. et al. Multilocus sequence typing of *Candida tropicalis* shows the presence of different clonal clusters and fluconazole susceptibility profiles in sequential isolates from candidemia patients in Sao Paulo, Brazil. **J Clin Microbiol**, v. 51, n. 1, p. 268-77, Jan 2013. ISSN 1098-660X.

Mancianti, F.; Nardoni, S.; Ceccherelli, R. Occurrence of yeasts in psittacines droppings from captive birds in Italy. **Mycopathologia**, v. 153, n. 3, p. 121-4, 2002. ISSN 0301-486X.

Manfredi, R. et al. Emergence of amphotericin B-resistant *Cryptococcus laurentii* meningoencephalitis shortly after treatment for *Cryptococcus neoformans* meningitis in a patient with AIDS. **AIDS Patient Care STDS**, v. 20, n. 4, p. 227-32, Apr 2006. ISSN 1087-2914.

Marinho, M. et al. Microbiota fúngica de passeriformes de cativos da região noroeste do Estado de São Paulo. **Vet. E Zootec.** v. 17(2), p. 288-292, Jun 2010. ISSN 0102-5716.

Martinez, R. C. El canario ágata. **Canarios de color**. 1ª ed. Hispano Europea. p. 221, 2009 ISBN: 978-84-255-1863-8.

Martino, R. et al. Invasive fungal infections after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: incidence and risk factors in 395 patients. **Br J Haematol**, v. 116, n. 2, p. 475-82, Feb 2002. ISSN 0007-1048.

Martins et al. Opportunist yeast infection in the respiratory tract of captive dolphins. **RPCV**, v. 97, n. 544, p. 189-92, 2002.

Mathias, J. M. Como criar calopsitas. **Revista Globo Rural**, São Paulo, 2008. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC1257601-4530,00.html>>. Acesso em: 15 set. 2014.

McCurdy, L. H.; Morrow, J. D. Ventriculitis due to *Cryptococcus uniguttulatus*. **South Med J**, v. 94, n. 1, p. 65-6, Jan 2001. ISSN 0038-4348.

- McLeland, S. et al. Cryptococcus albidus infection in a California sea lion (*Zalophus californianus*). **J Wildl Dis**, v. 48, n. 4, p. 1030-4, Oct 2012. ISSN 1943-3700.
- McMullan, B. J.; Sorrell, T. C.; Chen, S. C. Cryptococcus gattii infections: contemporary aspects of epidemiology, clinical manifestations and management of infection. **Future Microbiol**, v. 8, p. 1613-31, Dec 2013. ISSN 1746-0921.
- Melo, J. C. et al. Cryptococcus albidus meningitis. **J Infect**, v. 2, n. 1, p. 79-82, Mar 1980. ISSN 0163-4453.
- Melville, P. A. et al. Determinação da microbiota presente na cloaca e orofaringe de avestruzes (*Struthio camelus*) clinicamente sadios. **Cienc Rural**. v. 34, p.1871–1876, Nov-Dez 2004. ISSN 1678-4596.
- Mendes, A. A. & PAZ, I. C. L. A. Norma Técnica de Produção Integrada de Frango – São Paulo: União Brasileira de Avicultura, 64 págs., 2009.
- Mendes, F. R. et al. Utilização de antimicrobianos na avicultura. **Revista eletrônica Nutritime**, v. 10, n. 2, p. 2352 – 2389, Mar – Abr 2013. ISSN 1983-9006. Disponível em: <www.nutritime.com.br>.
- Mendes, J. F. et al. Fungi isolated from the excreta of wild birds in screening centers in Pelotas, RS, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 56, n. 6, p. 525-8, 2014 Nov-Dec 2014. ISSN 1678-9946.
- Menezes, E. A. et al. Correlation between microdilution, Etest, and disk diffusion methods for antifungal susceptibility testing of fluconazole against Candida sp. blood isolates. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 46, n. 1, p. 106-7, 2013 Jan-Feb 2013. ISSN 1678-9849.
- Menon, S. et al. Rhodotorula glutinis meningitis: a case report and review of literature. **Mycoses**, v. 57, n. 7, p. 447-51, Jul 2014. ISSN 1439-0507.
- Merseguel, K. B. et al. Genetic diversity of medically important and emerging Candida species causing invasive infection. **BMC Infect Dis**, v. 15, n. 1, p. 57, 2015. ISSN 1471-2334.
- Meyer, W. et al. Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the polymerase chain reaction to distinguish strains of Cryptococcus neoformans. **J Clin Microbiol**, v. 31, n. 9, p. 2274-80, Sep 1993. ISSN 0095-1137.
- Meyer, W.; Maszewska, K.; Sorrell, T. C. PCR fingerprinting: a convenient molecular tool to distinguish between Candida dubliniensis and Candida albicans. **Med Mycol**, v. 39, n. 2, p. 185-93, Apr 2001. ISSN 1369-3786.
- Miceli, M. H.; Lee, S. A. Emerging moulds: epidemiological trends and antifungal resistance. **Mycoses**, v. 54, n. 6, p. e666-78, Nov 2011. ISSN 1439-0507.

Mocan, H. et al. Fungal peritonitis in children on continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Scott Med J**, v. 34, n. 4, p. 494-6, Aug 1989. ISSN 0036-9330.

Molina-Leyva, A. et al. Cutaneous *Cryptococcus laurentii* infection in an immunocompetent child. **Int J Infect Dis**, v. 17, n. 12, p. e1232-3, Dec 2013. ISSN 1878-3511.

Molter, C. M.; Zuba, J. R.; Papendick, R. *Cryptococcus gattii* osteomyelitis and compounded itraconazole treatment failure in a Pesquet's parrot (*Psittichas fulgidus*). **J Zoo Wildl Med**, v. 45, n. 1, p. 127-33, Mar 2014. ISSN 1042-7260.

Montoya, A. M. et al. Genotyping, extracellular compounds, and antifungal susceptibility testing of *Trichosporon asahii* isolated from Mexican patients. **Med Mycol**, May 2015. ISSN 1460-2709.

Moretti, A. et al. Isolation of *Candida rugosa* from turkeys. **J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health**, v. 47, n. 6, p. 433-9, Aug 2000. ISSN 0931-1793.

Mseddi, F. et al. First environmental isolations of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in Tunisia and review of published studies on environmental isolations in Africa. **Mycopathologia**, v. 171, n. 5, p. 355-60, May 2011. ISSN 1573-0832.

Narayan, S. et al. Cutaneous cryptococcus infection due to *C. albidus* associated with Sézary syndrome. **Br J Dermatol**, v. 143, n. 3, p. 632-4, Sep 2000a. ISSN 0007-0963.

Nawange, S. R. et al. Naturally acquired systemic dual infection caused by *Candida famata* (*Debaryomyces hansenii*) and *Candida catenulata* in albino rats bred for sale in the market at Jabalpur (Madhya Pradesh), India. **Mycoses**, v. 53, n. 2, p. 173-5, Mar 2010. ISSN 1439-0507.

Nosanchuk, J. D. et al. Evidence of zoonotic transmission of *Cryptococcus neoformans* from a pet cockatoo to an immunocompromised patient. **Ann Intern Med**, v. 132, n. 3, p. 205-8, Feb 2000. ISSN 0003-4819.

Nouraei, S. et al. Comparison between Fluconazole with Oral Protexin Combination and Fluconazole in the Treatment of Vulvovaginal Candidiasis. **ISRN Obstet Gynecol**, v. 2012, p. 375806, 2012. ISSN 2090-4444.

Nouri, M. & Kamyabi, Z. Occurrence of Ventricular Candidiasis in a Lovebird (*Agapornis fischeri*). **Iranian Journal of Veterinary Science and Technology**, v. 2, n. 1, p. 51-56, Aug 2010.

Oliveira, V. K. et al. Fungemia caused by *Candida* species in a children's public hospital in the city of São Paulo, Brazil: study in the period 2007-2010. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 56, n. 4, p. 301-5, 2014 Jul-Aug 2014. ISSN 1678-9946.

Ortega, M. et al. *Candida* species bloodstream infection: epidemiology and outcome in a single institution from 1991 to 2008. **J Hosp Infect**, v. 77, n. 2, p. 157-61, Feb 2011. ISSN 1532-2939.

Pedroso, R. S. Caracterização molecular, virulência e suscetibilidade ao fluconazol de espécies ambientais de *Cryptococcus*, antes e após inoculação em modelo murino. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à Farmácia). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 2008.

Pedroso, R. D. S. et al. Antifungal susceptibility of isolates of *Candida* spp. by disk diffusion and broth microdilution. **Biosci. J**, Uberlândia, v.30, n.1, p. 304-311, Jan / Feb 2014.

Pedroso, R. S., et al. In vitro susceptibility to antifungal agents of environmental *Cryptococcus* spp, isolated in the city of Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 3, p. 239-43, Mai 2006. ISSN 1678-8060.

Pereira, L. et al. The use of MALDI-TOF ICMS as an alternative tool for *Trichophyton rubrum* identification and typing. **Enferm Infecc Microbiol Clin**, v. 32, n. 1, p. 11-7, Jan 2014. ISSN 1578-1852.

Pereira, S. *A presença dos animais na história do homem*. **Rev Mundo dos Animais**, n. 12, Ago 2009. Disponível em: < <http://www.mundodosanimais.pt/revista/edicao12/>>. Acesso em: 4 jan. 2015.

Pini, G. et al. Isolation of *Trichosporon* in a hematology ward. *Mycoses*, v. 48, n. 1, p. 45-9, Jan 2005. ISSN 0933-7407.

Pinto, P. M. et al. In vitro antifungal susceptibility of clinical isolates of *Candida* spp. obtained from patients with different predisposing factors to candidosis. **Microbiol Res**, v. 163, n. 5, p. 579-85, 2008. ISSN 0944-5013.

Poth, T. et al. First report of a *Cryptococcus magnus* infection in a cat. *Med Mycol*, v. 48, n. 7, p. 1000-4, Nov 2010. ISSN 1460-2709.

Prillinger, H. et al. Phenotypic and genotypic identification of yeasts from cheese. *Antonie Van Leeuwenhoek*, v. 75, n. 4, p. 267-83, May 1999. ISSN 0003-6072.

Proença, L. M. et al. Antemortem Diagnosis and Successful Treatment of Pulmonary Candidiasis in a Sun Conure (*Aratinga solstitialis*). *J Avian Med Surg*, v. 28, n. 4, p. 316-21, Dec 2014. ISSN 1082-6742.

Queiroz, J. P. A. F. et al. *Criptococose – uma revisão bibliográfica*. *Acta Veterinaria Brasileira*. v. 2, p. 32-8. 2008.

Quist, E. M. et al. Disseminated histoplasmosis with concurrent oral candidiasis in an Eclectus parrot (*Eclectus roratus*). **Avian Pathol**, v. 40, n. 2, p. 207-11, Apr 2011. ISSN 1465-3338.

Ramchandren, R.; Gladstone, D. E. *Cryptococcus albidus* infection in a patient undergoing autologous progenitor cell transplant. **Transplantation**, v. 77, n. 6, p. 956, Mar 2004. ISSN 0041-1337.

Ramos, L. e. S. et al. Protease and phospholipase activities of *Candida* spp. isolated from cutaneous candidiasis. **Rev Iberoam Micol**, v. 32, n. 2, p. 122-5, 2015 Apr-Jun 2015. ISSN 2173-9188.

Reis, E. J. C. et al. Feces of *Serinus canarius domesticus* (canaries): emergence and dissemination of azoles resistant yeast?. In: 27º Congresso Brasileiro de Microbiologia, 2013, Natal - RN. Anais SBM. São Paulo: Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2013. v. Único.

Reis, E. J. C. et al. Observational study of prevalence and antifungal resistance of pathogenic yeast from broilers. In: 18th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology 2012 (ISHAM 2012), 2012, Berlin. **Mycoses** - Diagnosis, Therapy and Prophylaxis of Fungal Diseases, v. 55. p. 151-152, 2012.

Rex, J. H. et al. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis**, v. 30, n. 4, p. 662-78, Apr 2000. ISSN 1058-4838.

Ribeiro, M. A.; Ngamskulrungrroj, P. Molecular characterization of environmental *Cryptococcus neoformans* isolated in Vitoria, ES, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 50, n. 6, p. 315-20, 2008 Nov-Dec 2008. ISSN 1678-9946.

Richard, G. F.; Kerrest, A.; Dujon, B. Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in eukaryotes. **Microbiol Mol Biol Rev**, v. 72, n. 4, p. 686-727, Dec 2008. ISSN 1098-5557.

Rimek, D. et al. First report of a case of meningitis caused by *Cryptococcus adeliensis* in a patient with acute myeloid leukemia. **J Clin Microbiol**, v. 42, n. 1, p. 481-3, Jan 2004. ISSN 0095-1137.

Rippon, R. J.; Alley, M. R.; Castro, I. *Candida albicans* infection in free-living populations of hihi (stitchbird; *Notiomystis cincta*). **N Z Vet J**, v. 58, n. 6, p. 299-306, Dec 2010. ISSN 0048-0169.

Ritterband, D. C. et al. A unique case of *Cryptococcus laurentii* keratitis spread by a rigid gas permeable contact lens in a patient with onychomycosis. **Cornea**, v. 17, n. 1, p. 115-8, Jan 1998. ISSN 0277-3740.

Rodríguez, M. et al. Central Nervous System Strongyloidiasis and Cryptococcosis in an HIV-Infected Patient Starting Antiretroviral Therapy. **Case Rep Med**, v. 2012, p. 575470, 2012. ISSN 1687-9635.

Rosário, I. et al. Isolation of *Cryptococcus* species including *C. neoformans* from cloaca of pigeons. **Mycoses**, v. 48, n. 6, p. 421-4, Nov 2005. ISSN 0933-7407.

Rosário, I. et al. Presence of *C. albidus*, *C. laurentii* and *C. uniguttulatus* in crop and droppings of pigeon lofts (*Columba livia*). **Mycopathologia**, v. 169, n. 4, p. 315-9, Apr 2010. ISSN 1573-0832.

Ruiz, A.; Bulmer, G. S. Particle size of airborne *Cryptococcus neoformans* in a tower. **Appl Environ Microbiol**, v. 41, n. 5, p.1225-9, Mai 1981.

Samour, J. H.; Naldo, J. L. Pancreatic atrophy in a peregrine falcon (*Falco peregrinus*). **Vet Rec**, v. 151, n. 4, p. 124-5, Jul 2002. ISSN 0042-4900.

Santos, E. R. et al. Susceptibility of *Candida* spp. isolated from blood cultures as evaluated using the M27-A3 and new M27-S4 approved breakpoints. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 56, n. 6, p. 477-82, 2014 Nov-Dec 2014. ISSN 1678-9946.

Santos, L. L., et al. Pesquisa de *Cryptococcus neoformans* e *Candida* spp. em excretas de psitacídeos e passeriformes cativos. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar**, v. 12, n. 1, p. 5-9, Jan-Jun 2009.

Sardi, J. C. et al. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **J Med Microbiol**, v. 62, n. Pt 1, p. 10-24, Jan 2013. ISSN 1473-5644.

Sellami, A. et al. Antifungal susceptibility of bloodstream *Candida* isolates in Sfax hospital: Tunisia. **Mycopathologia**, v. 171, n. 6, p. 417-22, Jun 2011. ISSN 1573-0832.

Shankar, E. M. et al. Pneumonia and pleural effusion due to *Cryptococcus laurentii* in a clinically proven case of AIDS. **Can Respir J**, v. 13, n. 5, p. 275-8, 2006 Jul-Aug 2006. ISSN 1198-2241.

Shrestha, R. K. et al. Pneumonia due to *Cryptococcus neoformans* in a patient receiving infliximab: possible zoonotic transmission from a pet cockatiel. **Respir Care**, v. 49, n. 6, p. 606-8, Jun 2004. ISSN 0020-1324.

Shrubsole-Cockwill, A. N. et al. Avian pox infection with secondary *Candida albicans* encephalitis in a juvenile golden eagle (*Aquila chrysaetos*). **J Avian Med Surg**, v. 24, n. 1, p. 64-71, Mar 2010. ISSN 1082-6742.

Sidrim, J. J. et al. *Candida* species isolated from the gastrointestinal tract of cockatiels (*Nymphicus hollandicus*): In vitro antifungal susceptibility profile and phospholipase activity. **Vet Microbiol**, v. 145, n. 3-4, p. 324-8, Oct 2010. ISSN 1873-2542.

Silveira, L. F. Calopsita: a pequena Cacatua australiana. Mundo da Aves. Revista Cães & Cia, v. 397, p. 62-63. 2012. Disponível em <http://www.ib.usp.br/~lfsilveira/pdf/a_2012_ceccalopsita.pdf>. Acesso em: 15 set. 2014.

Simon, G.; Erdös, M.; Maródi, L. Invasive *Cryptococcus laurentii* disease in a nine-year-old boy with X-linked hyper-immunoglobulin M syndrome. **Pediatr Infect Dis J**, v. 24, n. 10, p. 935-7, Oct 2005. ISSN 0891-3668.

Sinnott, J. T. et al. *Cryptococcus laurentii* infection complicating peritoneal dialysis. **Pediatr Infect Dis J**, v. 8, n. 11, p. 803-5, Nov 1989. ISSN 0891-3668.

Sriburee, P. et al. Serotype and PCR-fingerprints of clinical and environmental isolates of *Cryptococcus neoformans* in Chiang Mai, Thailand. **Mycopathologia**, v. 158, n. 1, p. 25-31, Jul 2004. ISSN 0301-486X.

Soll, D. R. The ins and outs of DNA fingerprinting the infectious fungi. **Clin Microbiol Rev**, v. 13, n. 2, p. 332-70, Apr 2000. ISSN 0893-8512.

Spesso, M. F. et al. Microsatellite-primed PCR and random primer amplification polymorphic DNA for the identification and epidemiology of dermatophytes. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 32, n. 8, p. 1009-15, Aug 2013. ISSN 1435-4373.

Spiliopoulou, A.; Anastassiou, E. D.; Christofidou, M. *Rhodotorula* fungemia of an intensive care unit patient and review of published cases. **Mycopathologia**, v. 174, n. 4, p. 301-9, Oct 2012. ISSN 1573-0832.

Tangwattanachuleeporn, M. et al. Prevalence and antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans* isolated from pigeon excreta in Chon Buri Province, Eastern Thailand. **Med Mycol J**, v. 54, n. 3, p. 303-7, 2013. ISSN 1882-0476.

Teodoro, V. L. et al. Environmental isolation, biochemical identification, and antifungal drug susceptibility of *Cryptococcus* species. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 46, n. 6, p. 759-64, 2013 Nov-Dec 2013. ISSN 1678-9849.

Tortorano, A. M. et al. European Confederation of Medical Mycology (ECMM) prospective survey of candidaemia: report from one Italian region. **J Hosp Infect**, v. 51, n. 4, p. 297-304, Aug 2002. ISSN 0195-6701.

Trofa, D.; Gácsér, A.; Nosanchuk, J. D. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. **Clin Microbiol Rev**, v. 21, n. 4, p. 606-25, Oct 2008. ISSN 1098-6618.

Turkylmaz, S.; Kaynarca, S. The slime production by yeasts isolated from subclinical mastitic cows. **Acta Veterinaria**, v. 78, n. 4, p. 581-6, Nov 2010.

União Brasileira de Avicultura. Relatório Anual 2014. Disponível em: <<http://www.ubabef.com.br/files/publicacoes/8ca705e70f0cb110ae3aed67d29c8842.pdf>>. Acesso em: 15 set. 2014.

Valério, E.; Gadanho, M.; Sampaio, J. P. *Sporobolomyces odoratus* sp. nov., a new species in the *Sporidiobolus ruineniae* clade. **FEMS Yeast Res**, v. 2, n. 1, p. 9-16, Mar 2002. ISSN 1567-1356.

Valmorri, S. et al. Yeast microbiota associated with spontaneous sourdough fermentations in the production of traditional wheat sourdough breads of the Abruzzo region (Italy). **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 97, n. 2, p. 119-29, Feb 2010. ISSN 1572-9699.

Velasco, M. C. Candidiasis and Cryptococcosis in Birds. **Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine**, v. 9, n. 2, p. 75-81, 2000.

Vlahović, K., E. et al. Bacterial and fungal flora in faecal samples from rooks (*Corvus frugilegus*) in the City of Zagreb, Croatia. **Vet. Arhiv**, v. 80, n. 1, p. 81-92, 2010.

Vlchkova-Lashkoska, M. et al. Cutaneous cryptococcus *Laurentii* infection in a human immunodeficiency virus-negative subject. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 18, n. 1, p. 99-100, Jan 2004. ISSN 0926-9959.

Walczak, E. et al. RAPD with microsatellite as a tool for differentiation of *Candida* genus yeasts isolated in brewing. **Food Microbiol**, v. 24, n. 3, p. 305-12, May 2007. ISSN 0740-0020.

Walker, H. W.; Ayres, J. C. Characteristics of yeasts isolated from processed poultry and the influence of tetracyclines on their growth. **Appl Microbiol**, v. 7, n. 4, p. 251-5, Jul 1959. ISSN 0003-6919.

Wells, F. E.; Stadelman, W. J. Development of yeasts on antibiotic-treated poultry. **Appl Microbiol**, v. 6, n. 6, p. 420-2, Nov 1958. ISSN 0003-6919.

Wells, G. M. et al. Brief report. Pulmonary cryptosporidiosis and *Cryptococcus albidus* fungemia in a child with acute lymphocytic leukemia. **Med Pediatr Oncol**, v. 31, n. 6, p. 544-6, Dec 1998. ISSN 0098-1532.

Williams, J. G. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Res**, v. 18, n. 22, p. 6531-5, Nov 1990. ISSN 0305-1048.

Winn, R. ET AL. Regractory pneumonia due to *Cryptococcus laurentii* variety *laurentii* in a non-immunocomprimed host (abstract F37). **Annual Metting American Society of Microbiology**, American Society of Microbiology: Washigton, DC, p. 370, 1985.

Wirth, F.; Goldani, L. Z. Epidemiology of *Rhodotorula*: an emerging pathogen. **Interdiscip Perspect Infect Dis**, v. 2012, p. 465717, 2012. ISSN 1687-7098.

Wu, Y. et al. Analysis of the clonality of *Candida tropicalis* strains from a general hospital in Beijing using multilocus sequence typing. **PLoS One**, v. 7, n. 11, p. e47767, 2012. ISSN 1932-6203.

Wu, Y. et al. Identification and molecular analysis of pathogenic yeasts in droppings of domestic pigeons in Beijing, China. **Mycopathologia**, v. 174, n. 3, p. 203-14, Sep 2012. ISSN 1573-0832.

Xufre, a. et al. Use of RAPD analysis for differentiation among six enological *Saccharomyces* sp. strains. **Food Technol. Biotechnol**, v. 38, p. 53-8, 2000.

Zarrin, M. et al. Isolation of *Cryptococcus neoformans* from pigeon droppings in Ahwaz, Iran. **Turk J Med Sci**, v. 40,n. 2, p. 313-6, 2010.

Zhou, J. et al. *Rhodotorula minuta* as onychomycosis agent in a Chinese patient: first report and literature review. **Mycoses**, v. 57, n. 3, p. 191-5, Mar 2014. ISSN 1439-0507.

Zuccari, D. A. P. C. et al. *Cryptococcus laurentii* respiratory infection in a dog. **Clin Microb N**, v. 32, n. 20, p. 159-60, Oct 2010.