



Microbiologia Veterinária Aplicada

Microbiologia veterinária aplicada

Fernando Zawadzki

© 2016 por Editora e Distribuidora Educacional S.A.
Todos os direitos reservados. Nenhuma parte desta publicação poderá ser reproduzida ou transmitida de qualquer modo ou por qualquer outro meio, eletrônico ou mecânico, incluindo fotocópia, gravação ou qualquer outro tipo de sistema de armazenamento e transmissão de informação, sem prévia autorização, por escrito, da Editora e Distribuidora Educacional S.A.

Presidente

Rodrigo Galindo

Vice-Presidente Acadêmico de Graduação

Mário Ghio Júnior

Conselho Acadêmico

Dieter S. S. Paiva
Camila Cardoso Rotella
Emanuel Santana
Alberto S. Santana
Lidiane Cristina Vivaldini Olo
Cristiane Lisandra Danna
Danielly Nunes Andrade Noé
Ana Lucia Jankovic Barduchi
Grasiele Aparecida Lourenço
Paulo Heraldo Costa do Valle
Thatiane Cristina dos Santos de Carvalho Ribeiro

Revisor Técnico

Marcia Cristina Aparecida Thomaz

Editoração

Emanuel Santana
Lidiane Cristina Vivaldini Olo
Cristiane Lisandra Danna
André Augusto de Andrade Ramos
Erick Silva Griep
Adilson Braga Fontes
Diogo Ribeiro Garcia
eGTB Editora

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Z11m Zawadzki, Fernando
Microbiologia veterinária aplicada / Fernando Zawadzki.
– Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2016.
236 p.

ISBN 9788584826780

1. Microbiologia veterinária. 2. Medicina veterinária -
Profissão. I. Título.

CDD 636.089601

2016
Editora e Distribuidora Educacional S.A.
Avenida Paris, 675 – Parque Residencial João Piza
CEP: 86041-100 – Londrina – PR
e-mail: editora.educacional@kroton.com.br
Homepage: <http://www.kroton.com.br/>

Sumário

Unidade 1 Virologia geral aplicada à medicina veterinária	7
Seção 1.1 - Estrutura viral	11
Seção 1.2 - Patogênese viral	23
Seção 1.3 - Diagnóstico virológico	35
Seção 1.4 - Etiopatogenia viral	47
Unidade 2 Famílias virais de importância em medicina veterinária	59
Seção 2.1 - Classificação viral I	63
Seção 2.2 - Classificação viral II	77
Seção 2.3 - Classificação viral III	91
Seção 2.4 - Doenças virais veterinárias	107
Unidade 3 Bacteriologia especial aplicada à Medicina Veterinária	127
Seção 3.1 - Morfologia e identificação das bactérias	129
Seção 3.2 - Classificação das bactérias I	141
Seção 3.3 - Classificação das bactérias II	153
Seção 3.4 - Classificação das bactérias III	163
Unidade 4 Micologia geral e especial aplicada à medicina veterinária	183
Seção 4.1 - Morfologia e identificação dos fungos	185
Seção 4.2 - Identificação dos fungos filamentosos	195
Seção 4.3 - Doenças fúngicas veterinárias	209
Seção 4.4 - Fisiologia e identificação das micotoxinas	223

Palavras do autor

Bem-vindo ao mundo da Microbiologia. O livro **Microbiologia Veterinária Aplicada** é um novo conceito de livro didático direcionado para estudantes de Microbiologia do curso de Medicina Veterinária. Composto por quatro unidades que irão abordar os fundamentos básicos de Virologia, Bacteriologia e Micologia, possui conteúdos amplamente revisados e atualizados, proporcionando ao aluno o autoestudo, de modo a fixar o conteúdo abordado de forma simples e adequada.

A Microbiologia estuda os microrganismos acelulares (vírus), procariontes (bactérias, arqueas) e eucariontes (fungos, algas) e suas propriedades físico-químicas. Este estudo permitirá que você identifique os agentes patológicos virais que acometem as diferentes espécies animais de estudo, ou os alimentos que supostamente poderiam estar contaminados por eles. Relatos de casos de seres humanos acometidos por microrganismos ocorrem desde a Idade Média, como o surto da Peste Bubônica, *Yersinia pestis*, que acometeu milhões de pessoas na Europa. Com o avanço tecnológico (microscopia ótica e microscopia eletrônica) e o aperfeiçoamento de técnicas laboratoriais foi permitida a identificação de inúmeros microrganismos patogênicos que acometem os animais e o ser humano, além do desenvolvimento de vacinas e medicamentos.

Com o objetivo de incentivar o aluno a desenvolver o autoestudo, cada unidade de ensino proporcionará a aproximação do conteúdo teórico-prático a partir da situação de realidade profissional, levando-o ao autoquestionamento do conteúdo. Portanto, ela será elaborada conforme o tema deste estudo, o que te permitirá solucionar cada uma de suas etapas com o auxílio do conteúdo abordado em cada seção.

- Na Unidade 1, abordaremos: estrutura viral, patogênese viral, diagnóstico viral e etiopatogenia viral.
- Na Unidade 2, abordaremos: classificação viral I, classificação viral II, classificação viral III e doenças virais veterinárias.
- Na Unidade 3, abordaremos: morfologia e identificação, classificação das bactérias I, classificação das bactérias II, classificação das bactérias III.
- Na Unidade 4, abordaremos: morfologia e identificação, identificação dos fungos filamentosos, doenças fúngicas veterinárias e fisiologia e identificação das micotoxinas.

Prezado aluno, o médico veterinário deve estar apto a caracterizar e a identificar o agente patológico a fim de propor uma resolução do caso em estudo. O material deste livro contém informações básicas e sintetizadas a fim de proporcionar a você, aluno, o desenvolvimento do autoestudo, além de assegurar uma formação adequada para atuar nas diferentes áreas da medicina veterinária.

Assim sendo, desejamos a você bons estudos!

Virologia geral aplicada à medicina veterinária

Convite ao estudo

Bem-vindo ao mundo da "Virologia". Esta é uma ciência que estuda os vírus e suas propriedades físico-químicas. Os vírus são microrganismos acelulares, extremamente pequenos, que podem infectar uma ampla variedade de hospedeiros, como: animais, plantas, bactérias, e outros tipos de células procarióticas e eucarióticas. Considerados parasitas intracelulares obrigatórios, eles são dependentes da maquinaria celular para desenvolver suas atividades biológicas e se multiplicar. Mas, em um ambiente extracelular, são considerados meras estruturas químicas, sem função biológica.

Diferentes agentes virais infectam animais de companhia e de produção, causando danos na saúde e no bem-estar dos animais, além de perdas econômicas. Portanto, compreender a Virologia é de fundamental importância para o médico veterinário na sociedade atual, a fim de estudar os mecanismos e patogenicidade virais, bem como suas vias de transmissão e, dessa forma, aplicar os conhecimentos no controle e no tratamento das doenças infecciosas. Os conteúdos abordados nesta unidade de ensino permitirão que você compreenda os conceitos e as definições básicas de Virologia, os componentes estruturais que constituem um vírus, as etapas de replicação viral na célula hospedeira, bem como conhecer os principais métodos de diagnósticos laboratoriais e as alterações morfológicas causadas pelos vírus na célula hospedeira.

Competência geral

Conhecer os principais microrganismos de interesse em medicina veterinária (bactérias, fungos e vírus), enfocando particularmente a taxonomia, características morfológicas, ecológicas, de sensibilidade, resistência e identificação laboratorial.

Competência técnica

Conhecer e compreender as particularidades dos vírus classificados nas diferentes famílias virais de importância clínica para a veterinária.

Objetivos

Dentre os objetivos desta unidade, você deverá compreender:

- Conceitos e definições básicas de Virologia;
- Caracterizar os componentes de uma partícula vírica;
- Compreender as etapas de replicação dos vírus DNA e RNA;
- Conhecer os principais métodos de diagnóstico laboratoriais;
- Compreender as alterações morfológicas ocorridas na célula hospedeira;
- Aplicar o conhecimento adquirido no estudo em situações próximas da realidade profissional.

Para auxiliar o conteúdo das competências que serão atribuídas nesta unidade, no parágrafo subsequente vamos apresentar uma situação de realidade profissional de um atendimento clínico realizado por um médico veterinário. Nesta situação, aproximaremos os conteúdos teóricos com a prática proposta nesta unidade. Leia com atenção o atendimento clínico realizado.

Recentemente, um produtor rural chamou o médico veterinário de sua confiança para fazer um atendimento clínico em sua propriedade. Durante a visita, informou ao profissional que nos últimos 3 dias a dieta das vacas havia sido alterada e que elas estavam salivando. O médico veterinário prosseguiu com o exame clínico das vacas em lactação e constatou intensa salivação, algumas lesões vesiculares no nariz e na mucosa oral e, em outra vaca, foram observadas erosões e úlceras na língua com lesões vesiculares em um dos tetos. O exame clínico também foi realizado em alguns suínos, mencionados pelo produtor, sendo constatada a presença de lesões vesiculares interdigitais (membro anterior e posterior) acompanhadas de claudicação. Suspeitando ser uma doença vesicular infecciosa, o médico veterinário realizou os procedimentos básicos de acordo com a legislação para casos de animais que apresentam lesões vesiculares, notificando, assim, o Serviço Veterinário Oficial (§ 3º, art.

4º, Instrução Normativa nº 44, de 2 de outubro de 2007). Ele indicou a possibilidade da existência de um ou mais animais que apresentavam sinais clínicos compatíveis com doença vesicular infecciosa.

Então, vamos começar os estudos?

Mãos à obra e boa sorte!

Seção 1.1

Estrutura viral

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos as estruturas biológicas e as propriedades físico-químicas dos vírus. Para melhor compreender o conteúdo abordado, vamos acrescentar informações na situação-problema referentes ao relato de caso apresentado no *Convite ao estudo*, dessa forma, você participará indiretamente da resolução do caso.

Em continuidade com o relato de caso apresentado na situação de realidade profissional, o Serviço Veterinário Oficial foi notificado (SVO), indicando a suspeita de febre aftosa. Em seguida, um médico veterinário do SVO se deslocou até a propriedade rural para realizar o levantamento das informações (localização da propriedade, rebanho existente, movimentação de animais, compra e venda de animais, vias de acesso à propriedade, demais propriedades pertencentes ao mesmo produtor, entre outras informações) e para a coleta de amostras. De acordo com ele, em casos suspeitos de febre aftosa, investigações complementares são necessárias para que se possa distinguir doenças vesiculares que apresentam sinais clínicos semelhantes, tais como: febre aftosa, estomatite vesicular, doença vesicular dos suínos e exantema vesicular. Segundo o médico veterinário, suspeita-se que os animais foram acometidos por um vírus pertencente à família *Picornaviridae*.

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos fazer uma análise detalhada dos sujeitos que estão participando do texto. A seguir, vamos apresentar algumas questões para ajudá-lo a entender o atendimento clínico:

- Quais espécies animais foram mencionadas no texto?
- Quais os sinais clínicos apresentados no texto, após o exame realizado nos animais?
- O médico veterinário poderia proceder com a emissão de um resultado final ao proprietário sem um diagnóstico laboratorial?

Mediante os conteúdos abordados nesta seção, defina o que é um vírus. A partícula viral é caracterizada por dois grupos, como eles são denominados? Cite os componentes que formam cada grupo da partícula viral e suas respectivas funções.

Não pode faltar

Prezado aluno, a partir desta seção, vamos começar a estudar os conteúdos aplicados à Virologia, como conceitos, definições, taxonomia, morfologia, estruturas biológicas e as propriedades físico-químicas dos vírus. Eles são microrganismos acelulares que podem infectar uma variedade ampla de hospedeiros, como animais, plantas, bactérias e fungos, entre outras células eucariontes e procariontes. Dentre as diferentes células hospedeiras, nesta seção abordaremos os vírus que infectam as células animais. Vamos lá!

Introdução à Virologia

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios, os quais necessitam de células hospedeiras para se multiplicar. Para ativar suas funções biológicas, eles infectam a célula hospedeira, tornando o ácido nucléico ativo e, com auxílio da maquinaria celular, inicia-se a multiplicação da partícula vírica. Por outro lado, quando presentes em um meio extracelular (fora da célula hospedeira) são considerados meras estruturas químicas, ou seja, uma partícula vírica inerte.

O termo vírus compreende o microrganismo (a palavra *virus* é originária do latim, que significa veneno), mas outras denominações também são encontradas na literatura, como partícula vírica, partícula viral ou vírion, utilizadas quando se refere à estrutura real do vírus, ou seja, a estrutura física completa que carrega consigo o genoma. Dentre os componentes que constituem a partícula vírica (capsídeo, genoma, envelope e matriz), o genoma contém uma pequena parte dos genes que codificam outras proteínas do capsídeo com o auxílio de enzimas que serão utilizadas na multiplicação viral. Cada genoma viral é constituído de um único ácido nucleico, ou seja, de um ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA), que, dependendo do vírus, pode conter DNA de fita simples ou dupla, ou RNA de fita simples ou dupla.



Assimile

Os vírus são microrganismos acelulares, ou seja, não possuem célula.

O genoma viral é composto por um único ácido nucleico (ácido ribonucleico – RNA ou ácido desoxirribonucleico – DNA).

O mundo dos vírus apresenta uma ampla variedade de espécies virais, as quais são classificadas de forma hierárquica: ordem, família, subfamília, gênero, espécie e subespécie. As regras oficiais de classificação viral são determinadas pelo Comitê Internacional para Nomenclatura de Vírus (*International Committee on Taxonomy of Viruses*), as quais são revisadas periodicamente, com o objetivo de atualizar e incorporar novas descobertas científicas.



Exemplificando

Para melhor compreender a taxonomia dos vírus, vamos classificar o agente patogênico da enfermidade Mamilite herpética bovina:

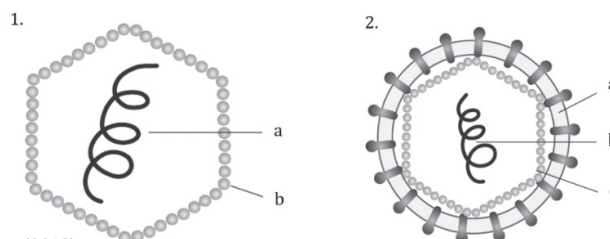
Família: *Herpesviridae*; Subfamília: *Alphaherpesvirinae*; Gênero: *Simplexvirus*; Espécie: *Herpesvirus bovinum*; e Subespécie: BoHV-2.

Nas últimas décadas, a microscopia ótica e eletrônica permitiu a identificação de vírus extremamente pequenos, podendo, assim, caracterizar sua morfologia e tamanho. Recentemente, com os avanços no estudo da genômica, o sequenciamento do ácido nucleico tem sido utilizado como critério de taxonomia. Demais conceitos, também importantes, permanecem nas atuais revisões de taxonômica viral, como: morfologia da partícula viral; sistema de classificação de Baltimore com base nas propriedades do ácido nucleico (DNA ou RNA); atividades funcionais das proteínas estruturais; propriedades físico-químicas (estabilidade em pH, termo estabilidade e suscetibilidade a agentes químicos); propriedades biológicas (modo de transmissão, patogenicidade, vetores etc.); os quais são empregados para caracterizar e classificar os vírus.

Componentes da partícula vírica

Estruturalmente, os vírions são caracterizados em dois grupos: vírions ausentes de envelope e vírions que contém o envelope. A diferença básica entre esses dois grupos está relacionada com a presença ou ausência do envelope, sendo que ambos possuem capsídeo e genoma (Figura 1.1).

Figura 1.1 | Componentes estruturais básicos dos vírions: 1 – Vírion sem envelope (a) genoma e (b) capsídeo; 2 – Vírion com envelope, (a) envelope, (b) genoma e (c) capsídeo



Fonte: adaptado de Flores (2012).

Conseguiu assimilar os componentes de um vírus? Foi fácil, não é mesmo? A seguir, vamos estudar detalhadamente os componentes dos vírions: envelope, capsídeo, genoma e matriz. Vamos lá!

Envelope

O envelope é constituído por uma membrana lipoproteica. Os lipídeos (fosfolipídios e colesterol) presentes na bicamada lipídica são oriundos da membrana da célula hospedeira, enquanto as proteínas (glicoproteínas) são codificadas pelos genes do vírion. Ambos os processos ocorrem durante a morfogênese pelo processo denominado brotamento (processo de inserção dos nucleocapsídeo na membrana da célula hospedeira).

As glicoproteínas são codificadas pelos genes no aparelho de Golgi e no retículo endoplasmático rugoso, as quais podem ser armazenadas no mesmo local de síntese ou transferidas para a membrana plasmática durante o brotamento. As proteínas integrais de membrana possuem uma parte interna (denominada proteínas transperiféricas) e outra parte exposta (denominada cauda).

A cauda é constituída de aminoácidos hidrofóbicos, os quais desempenham diversas funções, como ligação aos receptores da célula, fusão do envelope e membrana, penetração do vírus na célula hospedeira e difusão do mesmo para outras células. Já a parte que está na transmembrana tem a função de ancorar a proteína. De modo geral, as glicoproteínas auxiliam os vírions nas interações vírion x célula para iniciar a infectividade.

Capsídeo

O capsídeo é constituído de uma camada proteica que envolve e confere proteção ao genoma. Ela assegura a integridade do material genético para multiplicação viral. Durante a infeção viral de vírions sem envelope, as proteínas presentes no capsídeo interagem com a célula hospedeira e com os anticorpos do sistema imune, em alguns casos, as inativa e favorece a penetração do vírus.

Em sua estrutura, o capsídeo é formado pela associação de diferentes tipos de proteínas ou de uma mesma proteína. Para melhor compreender essa formação, diferentes nomes são designados de acordo com associação de diferentes proteínas ou componentes. Além das proteínas de constituição da camada proteica, outras proteínas podem estar associadas com o genoma, esta associação denomina-se núcleo ou core. Com o conceito formado sobre núcleo, denomina-se nucleocapsídeo a associação do núcleo (core) e capsídeo.

O capsídeo é constituído por subunidades proteicas denominadas protômeros, que, quando associados, formam unidades tridimensionais denominadas capsômeros, as quais são responsáveis por definir a simetria do vírion. Os vírions

envelopados e não envelopados possuem duas principais simetrias: helicoidal e icosaédrica. Entretanto, alguns vírions podem apresentar simetrias complexas. Nas figuras a seguir, serão apresentadas as duas principais simetrias e os componentes básicos dos vírions:

Figura 1.2 | Vírion de simetria helicoidal sem envelope: (a) capsídeo, (b) genoma e (c) capsômero.

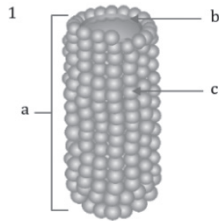


Figura 1.3 | Vírion de simetria icosaédrica sem envelope: (a) capsídeo, (b) genoma e (c) capsômeros.

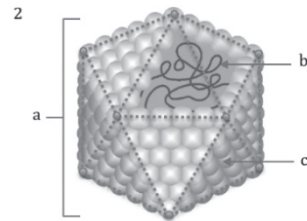


Figura 1.4 | Vírion de simetria helicoidal com envelope: (a) capsídeo, (b) genoma, (c) capsômero (constituído de subunidades de protômeros), (d) envelope e (e) proteínas do envelope.

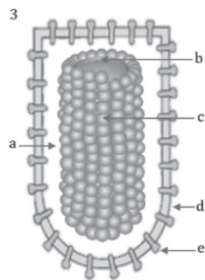
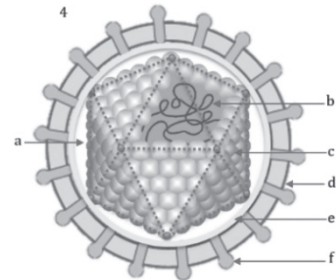


Figura 1.5 | Vírion de simetria isocaédrica com envelope: (a) capsídeo, (b) genoma, (c) capsômero (constituído de subunidades de protômeros), (d) envelope, (e) matriz e (f) proteínas do envelope.



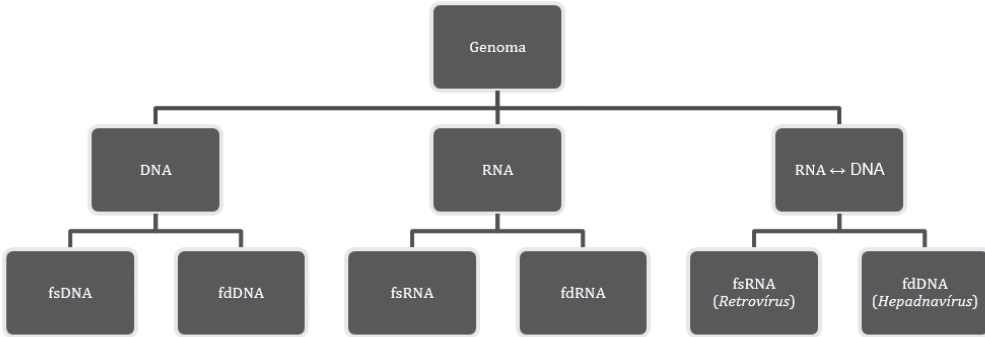
Fonte: adaptado de Flores (2012).

Genoma

O genoma é constituído de uma única molécula de ácido nucleico: desoxirribonucleico (DNA) ou ribonucleico (RNA). Assim, com base no ácido nucleico, os vírus podem ser classificados em vírus DNA e vírus RNA (classificação de Baltimore). Entretanto, alguns vírus, como os "retrovírus", utilizam ambos ácidos nucleicos nos diferentes estágios de multiplicação viral.

Estruturalmente, o genoma será constituído de um único ácido nucleico (DNA ou RNA), o qual poderá estar presente na forma de fita simples (fsDNA ou fsRNA) ou em fita dupla (fdDNA ou fdRNA) e, em alguns casos, utiliza os dois ácidos nucleicos durante a multiplicação viral, porém o genoma viral sempre será composto de um único ácido nucleico.

Figura 1.6 | Componentes do genoma viral



Fonte: adaptado de Madigan (2010).

Os genomas dos vírus DNA são constituídos em sua maioria de fdDNA. De acordo com o agente viral, a cadeia de fdDNA pode apresentar formas variadas, como linear, circular ou semelhantes a um grampo de cabelo. Entretanto, alguns podem apresentar fsDNA (*parvovirus*, *circovirus* e *hepadnavirus*). Os vírus RNA, em sua maioria, são constituídos de fsRNA. Os vírus fsRNA lineares são constituídos de uma única molécula (denominados de monopartite ou de genomas não segmentados) ou mais de uma molécula (denominados de multipartite ou genomas segmentados). Com exceção de alguns vírus, como: *reovirus* e *birnavirus*, os quais possuem genoma segmentados de fdRNA.

Durante o processo de replicação do genoma, o primeiro passo é a tradução do RNA. Uma característica importante dos vírus RNAs é o sentido que o genoma se apresenta em relação ao RNA mensageiro no processo de tradução. Os vírus RNAs de sentido positivo (polaridade positiva), possuem o mesmo sentido do RNA mensageiro; enquanto outros possuem RNAs de sentido negativo (polaridade negativa), ou seja, de sentido oposto ao RNA mensageiro. Os vírus RNAs de polaridade positiva são traduzidos diretamente no ribossomo da célula hospedeira, enquanto os vírus que possuem RNAs de polaridade negativa não são traduzidos diretamente no ribossomo, pois necessitam da enzima polimerase de RNA para iniciar o processo de tradução.



Pesquise mais

Você sabia que a classificação de Baltimore é um sistema de classificação viral baseado na síntese de RNA mensageiro? Acesse o link disponível em: <<https://pt.wikipedia.org/wiki/V%C3%ADrus>>. Acesso em: 27 maio 2016. e descubra mais sobre a classificação de Baltimore.

Matriz

A denominação de matriz é designada para as proteínas que envolvem o nucleocapsídeo. A matriz é encontrada principalmente em vírus RNAs de polaridade negativa, essas proteínas desempenham papel importante na interação entre os nucleotídeos com a cauda das glicoproteínas, durante o processo de morfogênese.

Proteínas codificadas pelos vírus e outros componentes dos vírions

As proteínas codificadas pelo genoma dos vírions são classificadas em estruturais e não estruturais. Para compreender melhor, as proteínas estruturais estão presentes na estrutura do vírion, mais precisamente no capsídeo (core ou núcleo). Enquanto as proteínas não estruturais são as que desenvolvem atividades enzimáticas, dentre as quais pode-se citar as enzimas DNA polimerase e RNA polimerase. A quantidade dessas proteínas codificadas pelo genoma varia de acordo com a complexidade do vírus.

Os principais componentes estruturais dos vírions foram descritos anteriormente, porém outros componentes, como enzimas, proteínas, lipídeos, carboidratos, ácidos nucleicos celulares e proteínas celulares estão presentes nos vírions, os quais desempenham papéis importantes durante o processo de multiplicação viral. São eles:

- Enzimas – Os vírus de fsRNA e com polaridade negativa necessitam da enzima polimerase de RNA para iniciar o processo de tradução. Diversas enzimas presentes em diferentes vírions participam no processo de replicação viral, como: endonucleases, proteases, quinases, integrases e ribonuclease.
- Lipídios – Constituídos de fosfolipídios e colesterol, os lipídios constituem de 20 a 35% da massa presente nos vírus envelopados. Os lipídios são derivados da membrana da célula hospedeira.
- Carboidratos – Constituídos de glicoproteínas, glicolipídios e mucopolissacarídeos, estão presentes no envelope de vírus simples e associados com proteínas internas em vírus complexos.

Propriedades biológicas e físico-químicas das partículas víricas

Os vírus fora da célula hospedeira são considerados meras estruturas químicas, ou seja, são biologicamente inertes. Por outro lado, algumas partículas víricas podem ser anômalas, ou seja, não causam infecções mesmo dentro da célula. Esta anomalia pode ser causada por diversos fatores, que variam de acordo com o vírus, dentre os quais, pode-se mencionar a ausência de genoma (DNA ou RNA), incompleta formação de segmentos genômicos; genomas com deleções em um ou mais genes, denominados de “partículas defectivas”; capsídeos vazios em função da degradação do genoma; formação de partículas víricas incompletas.



Refleta

Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios.

Diferentes fatores podem comprometer as atividades funcionais dos vírions. Fatores físico-químicos, como temperatura e pH, podem comprometer a integridade das estruturas biológicas dos vírions, inativando-os. Temperaturas na faixa de 55 a 60°C causam desnaturação das proteínas, o que compromete a integridade das estruturas e das funções biológicas dos vírions. Comparando os tipos de vírions envelopados e os sem envelope, os que possuem envelope são mais suscetíveis em função da presença de proteínas na camada superficial. Alguns vírus são suscetíveis à temperatura ambiente e quando são submetidos a processos de congelamento e descongelamento. Pensando na conservação em longo período de tempo, recomenda-se manter em temperaturas abaixo de -70°C ou em nitrogênio líquido, a -196°C. Porém, em processos de liofilização das amostras, somente são eficientes quando as amostras mantidas na faixa de -20 a 4°C.

Em relação ao potencial hidrogeniônico (pH), a integridade da atividade biológica dos vírions com envelope é influenciada já no início da queda do pH da neutralidade para base ácida (pH 6 para 5). Enquanto alguns vírions sem envelope apresentam maior resistência em condições de pH ácido, assim denominadas de ácido-resistentes (ex. rotavírus). Algumas substâncias químicas, como formalina e detergentes, atuam sobre as glicoproteínas do envelope, alterando a conformação das proteínas e comprometendo a atividade biológica dos vírus (infectividade). Outros solventes, como éter de petróleo e clorofórmio, comprometem os componentes da camada lipídica.



Faça você mesmo

Agora você sabe o que é um vírus? Então, defina-o e explique: Por que ele é considerado parasita intracelular obrigatório?

Sem medo de errar

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os pontos que foram analisados anteriormente da situação de realidade profissional, que abrange as espécies animais, os sinais clínicos e o tipo de microrganismo suspeito. De acordo com o descrito no relato de caso, duas espécies animais apresentaram sinais clínicos, sendo 2 vacas e 3 suínos. Durante o exame clínico dos animais, as vacas apresentavam intensa salivagem, lesões vesiculares no nariz e na mucosa oral,

erosões e úlceras na língua, além de lesões vesiculares nos tetos. Enquanto isso, nos suínos foram observadas lesões vesiculares na interdigital dos pés (tanto no membro anterior como membro posterior).



Atenção

A doença é causada por um vírus.

Os sinais clínicos auxiliam para predizer uma suspeita, porém não é possível determinar um diagnóstico definitivo neste caso. Assim, é necessária a coleta de material biológico para análise em laboratório. O microrganismo suspeito que está acometendo os animais é o vírus da febre aftosa. Assim sendo, investigações complementares são necessárias para distinguir de outras doenças vesiculares que apresentam sinais clínicos semelhantes. Com base nessas informações, podemos prosseguir com um estudo mais detalhado, conhecendo melhor o microrganismo.

Os vírus são microrganismos acelulares e extremamente pequenos, os quais podem infectar uma variedade ampla de hospedeiros. São parasitas intracelulares obrigatórios, os quais dependem das funções e do metabolismo celular para exercer a atividade biológica, ou seja, para se multiplicar. Estruturalmente, as partículas víricas podem ser classificadas em dois grupos: com envelope ou sem envelope. Os vírus envelopados constituem-se de: envelope, capsídeo, genoma e matriz, em alguns casos, enquanto que os vírus sem envelope são constituídos apenas de capsídeo e genoma. O envelope é constituído de uma membrana lipoproteica. As proteínas existentes nesta camada são codificadas pelos genes, enquanto que os lipídios são oriundos da membrana da célula hospedeira. O capsídeo é constituído de uma camada proteica, o qual envolve e confere proteção ao genoma. Ambos, envelope e capsídeo, conferem proteção ao genoma contra agentes químicos, enzimáticos ou danos físicos. O genoma é constituído de uma única molécula de ácido nucleico: desoxirribonucleico (DNA) ou ribonucleico (RNA), o qual é por codificar as proteínas e assegurar a replicação.

Avançando na prática

Para auxiliar no conteúdo das competências que foram atribuídas, no parágrafo subsequente, vamos apresentar uma nova Situação de Realidade Profissional, que se refere ao atendimento clínico de um cão. Nesta situação, aproximaremos os conteúdos teóricos com a prática proposta nesta seção de ensino. Leia com atenção o atendimento clínico realizado pelo médico veterinário.

Vírus da Cinomose Canina – uma doença altamente contagiosa em cães

Descrição da situação-problema

Recentemente, um proprietário encaminhou seu cão ao Hospital Veterinário da cidade. Durante o atendimento, o senhor relatou que seu animal apresentava anorexia, tosse e vômito. Onde o animal permanecia, não havia vestígios de fezes ou urina e o pote de água permanecia cheio. De acordo com o proprietário, o animal tinha contato com outros animais da rua somente pela grade da cerca e durante o período noturno. Além disso, relatou que o animal tinha sido medicado com um vermífugo há 6 meses e que a última vacina realizada foi a antirrábica (o animal não tinha carteira de vacinação). Durante o exame clínico, o médico veterinário constatou que o animal estava apático, com leve desidratação, hipertermia (40,0°C), presença de carrapatos, secreção nasal e ocular mucopurulenta. Também foi observado hiperqueratose no nariz. Com base nos exames clínicos, foi solicitado hemograma, contagem de plaquetas e hematozoários. Foi instituído um tratamento de fluidoterapia infundido com um complexo vitamínico para o cão. Os exames evidenciaram linfopenia, indicando um processo infeccioso viral, trombocitopenia, indicando a redução de plaquetas e a presença de corpúsculo de inclusão nas células de linfócitos e neutrófilo. Com a presença do corpúsculo de Lentz, é confirmado o diagnóstico para cinomose, a qual é causada por um agente viral pertencente à família *Paramyxoviridae* que contém uma única molécula de RNA.

Mediante os conteúdos abordados nesta seção, responda as seguintes questões: Comente sobre os tipos de ácidos nucleicos que um genoma viral pode apresentar. Explique o que é um vírus RNA de polaridade positiva e negativa.



Lembre-se

O genoma contém uma única molécula de DNA ou RNA, que podem estar presentes na forma de fita simples ou dupla. Os vírus RNAs de fita simples podem apresentar RNA de polaridade positiva ou negativa.

Resolução da situação-problema

Em continuidade com o relato de caso apresentado na nova situação de realidade profissional, os exames laboratoriais evidenciaram que o cão estava acometido pelo Vírus da Cinomose Canina (VCC). A cinomose é uma doença altamente contagiosa em cães e de mortalidade variável. O VCC pertence à família *Paramyxoviridae*, subfamília *Paramyxovirinae*, Gênero *Morbillivirus*, o qual contém uma única molécula de RNA de fita simples. Conhecer o tipo de ácido nucleico que o genoma contém é importante para compreender a replicação viral que apresenta diferentes características. Para melhor compreender os constituintes do genoma, mediante o

conteúdo estudado, vamos responder às questões do caso clínico.

Nas diferentes espécies virais, o genoma pode ser constituído de uma molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA) ou de ácido ribonucleico (RNA), porém, nunca ambos. As moléculas de DNA e RNA poderão estar presentes na forma de fita simples (fsDNA ou fsRNA) ou em fita dupla (fdDNA ou fdRNA) e, em alguns casos, utilizam os dois ácidos nucleicos durante a multiplicação viral, porém o genoma viral sempre será composto de uma única molécula de ácido nucleico (DNA ou RNA).

Outra característica importante dos vírus RNAs é o sentido que o genoma se apresenta em relação ao RNA mensageiro. Os vírus de sentido positivo (polaridade positiva), possuem o mesmo sentido do RNA mensageiro, que permite serem traduzidos diretamente no ribossomo. Enquanto os vírus de sentido negativo (polaridade negativa) não são traduzidos diretamente no ribossomo, pois necessitam da enzima RNA polimerase, que auxilia no processo de tradução.

Faça valer a pena

1. A estrutura física do vírus é denominada vírion, o qual possui diferentes componentes que constituem sua estrutura.

Os principais componentes de uma estrutura vírica básica são denominados de _____, _____, _____ e _____.

Assinale a alternativa que completa corretamente as lacunas:

- a) Capsídeo, genoma, envelope e glicerol.
- b) Glicerol, capsídeo, genoma e matriz.
- c) Capsídeo, genoma, envelope e matriz.
- d) Antígeno, capsídeo, genoma e matriz.
- e) Capsídeo, genoma, envelope e antígeno.

2. Os vírus são microrganismos extremamente pequenos e dependentes da maquinaria da célula hospedeira.

Qual das características apresentadas a seguir, um vírus não apresenta? Assinale a alternativa correta:

- a) Os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios.
- b) Os vírus são considerados meras estruturas químicas e biologicamente inertes quando fora da célula hospedeira.
- c) A estrutura física do vírus é denominada de vírion, partícula vírica ou

partícula viral.

d) O capsídeo da partícula vírica é composto de unidades morfológicas denominadas de capsômeros.

e) O envelope é composto de uma camada proteica presente em todos os vírus RNA e DNA.

3. Os vírus podem ser constituídos de diferentes componentes, dentre os quais, o genoma pode ser constituído por um único ácido nucleico.

Como são chamados os dois principais ácidos nucleicos? Assinale a alternativa correta:

a) Ácido ribonucleico e ácido desoxirribonucleico.

b) Ácido araquidônico e ácido linoleico.

c) Ácido ribonucleico e ácido docadecanoico.

d) Ácido desoxirribonucleico e ácido docadecanoico.

e) Ácido araquidônico e ácido ribonucleico.

Seção 1.2

Patogênese viral

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos conceitos de suscetibilidade e permissividade dos agentes virais e as etapas da replicação dos vírus DNA e RNA. Para auxiliar no conteúdo abordado, vamos apresentar novas informações na situação-problema referente ao relato de caso apresentado no *Convite ao estudo*, dessa forma, você participará indiretamente na resolução do caso.

Em continuidade ao relato de caso apresentado na situação de realidade profissional, o Serviço Veterinário Oficial foi notificado (SVO) com a suspeita de febre aftosa (vírus pertencente à família *Herpesviridae*). Diferentes tipos de amostras (material biológico) foram coletados dos animais suspeitos. Após identificação, foram enviados para análise laboratorial (Laboratórios Nacionais Agropecuários (LANAGRO), vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA). As amostras enviadas continham fragmentos do epitélio vesicular da região oral, nasal e interdigital, além do líquido esofágico-faríngeo e do soro sanguíneo. A determinação de coletar diferentes tipos de materiais biológicos é necessária em função do vírus suspeito poder se replicar em diferentes células do hospedeiro. Mediante os conteúdos abordados nesta seção, responda as questões a seguir: a) Conceitue os termos: infecção, infecção produtiva, infecção abortiva, suscetibilidade, permissividade e internalização; b) Cite os processos de penetração que a partícula viral pode utilizar para introduzir o material genético na célula hospedeira.

Não pode faltar

Nesta seção abordaremos os conceitos de suscetibilidade e permissividade, e, em seguida, conheceremos as principais etapas que ocorrem na replicação de uma partícula vírica. Vamos iniciar os estudos!

Suscetibilidade e permissividade dos agentes virais

O termo infecção (derivada da palavra *infere*, do latim, que significa penetrar) é empregado para caracterizar todas as etapas do processo de replicação viral (adsorção, penetração, expressão gênica, replicação do genoma, morfogênese, maturação e egresso da progênie viral). O processo de replicação viral, também denominado de ciclo replicativo, se inicia com a adsorção e penetração e é finalizado com as etapas subsequentes (internalização, replicação, morfogênese, maturação e egressão). Alguns termos devem ser conhecidos para melhor compreensão do ciclo replicativo. Vamos lá!



Assimile

Infecção *produtiva*: quando todas as etapas são realizadas.

Infecção *abortiva*: a replicação é parcial, ou seja, quando ocorre interrupção de alguma etapa após penetração na célula hospedeira.

Naturalmente, todas as células vivas estão sujeitas à infecção viral. No entanto, a célula hospedeira pode apresentar particularidades ou fatores que interferem nesse processo, que se caracteriza em duas situações: suscetibilidade (refere-se à aceitabilidade das células do hospedeiro à infecção viral) e permissividade (refere-se as condições do ambiente intracelular para que ocorra o processo de replicação viral).

Entretanto, ocorrem situações em que a célula hospedeira não possui as duas características de suscetibilidade e permissividade, impedindo o ciclo replicativo. Para sua melhor compreensão, vamos exemplificar a situação. Vamos lá!



Exemplificando

Célula *não suscetível*: situações em que a célula hospedeira é permissível à infecção, porém pela ausência de receptores ou de outros fatores (virais ou celulares) impede a penetração do vírus.

Células *semipermissivas*: situações em que a célula hospedeira é suscetível à infecção, porém ocorre a interrupção de alguma etapa inicial do ciclo replicativo.

A interação entre hospedeiro e espécies virais é complexa e envolve diversos fatores. Dentre as espécies animais existe uma grande variação de suscetibilidade às espécies virais, comprometendo ou não o ciclo replicativo. Na primeira etapa do ciclo replicativo, a presença de moléculas específicas na membrana plasmática (*receptores virais*) é determinante na *suscetibilidade* e *tropismo* (aceitação do vírus por determinadas células).



Vocabulário

Patógeno: refere-se ao agente infeccioso que causa a doença.

Patogenicidade: refere-se à capacidade do agente de infectar a célula hospedeira e causar a doença.

Patogênese ou patogenia: refere-se às etapas ou mecanismos envolvidos no desenvolvimento da doença.

Etapas da replicação dos vírus DNA e RNA

Os mecanismos envolvidos na replicação dos vírus DNA e nos vírus RNA são semelhantes, porém com algumas características específicas. Neste tópico, vamos apresentar as principais etapas de replicação, que são semelhantes para os vírus DNA e RNA. Vamos lá!

Adsorção

No processo inicial de infecção viral, a adsorção é a primeira etapa para o vírus penetrar na célula hospedeira. O contato entre a partícula vírica e a célula hospedeira é um evento ao acaso, que ocorre por meio de uma interação química independente de energia ou do metabolismo celular. Os receptores presentes na célula hospedeira desempenham diferentes funções no metabolismo celular. Para os vírus, estes receptores se tornam portas de entrada para iniciar a infecção.

De acordo com a estrutura da partícula vírica (vírions com ou sem envelope), o processo de adsorção será mediado por moléculas (proteínas, glicoproteínas, lipídios, lipoproteínas, etc.) presentes na superfície, as quais se ligam aos receptores da célula hospedeira (processo denominado *Viral attachment proteins* – VAPs). Nas partículas víricas sem envelope, o processo de adsorção é mediado pelas proteínas do capsídeo, já nas partículas com envelope, o processo de adsorção é mediado pelas glicoproteínas ou glicolipídios.

Estudos mostram que cada partícula vírica possui local e receptor específico durante a adsorção para que ocorra penetração. Nesses locais há a liberação de sinais químicos que auxiliam no processo de penetração por endocitose. Em alguns vírus, a ligação de um determinado receptor não é suficiente para efetivar a penetração na célula hospedeira, desta forma, a partícula vírica interage com outras proteínas (denominadas de co-receptores). Com a fusão do envelope na membrana celular, em seguida ocorre a formação da vesícula endocítica, a qual recobre o nucleocapsídeo.



Exemplificando

Vírus DNA da família *Parvoviridae* (Parvovírus canino): liga-se ao receptor transferrina localizado no endossomo.

Vírus RNA da família *Flaviviridae* (Vírus da diarreia viral bovina): liga-se ao receptor CD46 bovino localizado no endossomo.

Penetração

A etapa de penetração ocorre após a adsorção da partícula vírica na célula hospedeira. Nessa etapa, existem mecanismos específicos de penetração que as partículas víricas utilizam, porém existem mecanismos diretos para transferir o material genético para a célula hospedeira. No mecanismo direto, o processo ocorre mediante a adsorção de proteínas virais com membrana lateral da célula, porém este mecanismo, ou seja, a simples internalização não assegura que a replicação irá efetivar, em função de vários fatores envolvidos.

Em mecanismos específicos, a penetração da partícula vírica pode ocorrer sem prévia internalização (na superfície da célula) ou após internalização (no interior do citoplasma) com a formação de vesículas. As etapas de penetração e internalização da partícula vírica são consideradas um processo ativo, o qual é mediado com auxílio de energia proveniente da célula. Dentre os diferentes mecanismos para introduzir o nucleocapsídeo (genoma e proteínas) no interior da célula, pode-se citar a penetração por fusão na superfície celular, a penetração após endocitose (mediada por clatrina, caveolina ou lipídios) e a penetração por fagocitose ou macropinocitose. A seguir, vamos apresentar cada mecanismo. Vamos lá!

Penetração por fusão na superfície

Neste mecanismo, o processo penetração ocorre na superfície da célula hospedeira. O nucleocapsídeo penetra mediante um canal formado a partir da fusão das proteínas do envelope com a membrana da célula hospedeira. No entanto, algumas barreiras presentes na célula hospedeira podem dificultar a introdução do nucleocapsídeo para alcançar o local adequado. Dentre essas barreiras, observa-se que células com citoesqueleto cortical de maior espessura podem dificultar a penetração do nucleocapsídeo, entretanto, a partícula vírica desenvolve mecanismos alternativos e consegue chegar ao citoplasma celular.

Penetração por endocitose

Este mecanismo é amplamente utilizado pelos vírus com ou sem envelope (mais relevante para os vírus envelopados) em função de ser um processo natural que ocorre na maioria das células. Nesse processo, a fusão dos vírions pode ocorrer

em qualquer ponto da membrana da célula hospedeira. Em seguida, os vírions são internalizados para assegurar seu deslocamento até o local de expressão gênica.

- Endocitose mediada por receptor clatrina: a clatrina é uma proteína que está presente na parte voltada para o citoplasma em cavidades da membrana plasmática da célula hospedeira. Durante a formação da vesícula, a clatrina reveste a vesícula e confere estabilidade. Após a completa invaginação, o revestimento de clatrina é removido da vesícula, a qual se desloca livre em direção ao interior da célula. Durante o deslocamento, o ambiente endossomal é acidificado gradativamente (*vírus de pH-dependentes*). A redução do pH facilita a dissociação dos nucleocapsídeo do envelope e promove sua liberação no citoplasma.
- Endocitose mediada por receptor caveolina: a caveolina é uma proteína que está presente na membrana plasmática das caveolas voltadas para o citoplasma. As caveolas são pequenas invaginações presentes na membrana da célula hospedeira. Após adsorção, as partículas víricas se movimentam na superfície da membrana da célula hospedeira, durante este percurso, a partícula vírica é capturada pelas caveolas. Em seguida, ocorre a formação da vesícula de caveolas se deslocam no citoplasma e se fundem aos cavessomos (pH neutro), que são transportadas até a região perinuclear do retículo endoplasmático.
- Endocitose mediada por lipídios: nesse processo, a clatrina ou caveolina não participa da internalização da partícula vírica. As moléculas de esfingolipídeos, glicoesfingolipídeos e/ou colesterol se associam formando micro condomínios (*lipid rafts*), onde as partículas víricas se internalizam. Posteriormente, são deslocados para o endossomo e, em seguida, ocorre a penetração para o compartimento citoplasmático.

Penetração por fagocitose ou macropinocitose

Alguns vírus utilizam a penetração por fagocitose para internalização da partícula vírica e posterior penetração para introduzir o material genético. Nesta via, a partícula vírica deve possuir características de *pH-dependente*, devido a acidificação que ocorre nos endossomos e lisossomos com após a fusão dos fagossomos. Enquanto que, a penetração por macropinocitose é um processo de internalização de volumes elevados de substâncias, as quais são direcionadas aos endossomos e lisossomos.

Expressão gênica

Após a penetração no citoplasma celular, a partícula vírica no interior da vesícula se desloca de forma passiva até o local em que ocorrerá a expressão gênica. Em etapa anterior à expressão gênica, os componentes do nucleocapsídeo devem ser

expostos às enzimas para que ocorra a expressão gênica (transcrição e tradução), evento denominado desnudamento. Durante a exposição dos componentes do nucleocapsídeo, pode ser completa ou parcial. Em alguns vírus, ela pode ocorrer mesmo com o desnudamento parcial e, em outras situações, somente com o desnudamento completo.

Nos vírus DNA e RNA, o RNA mensageiro será responsável pela transferência de informação do material genético para síntese de proteínas. Em grande maioria dos vírus DNA, a expressão gênica ocorre no núcleo da célula. Barreiras são observadas em relação da estrutura do núcleo celular (tamanho dos poros) que limitam a entrada do nucleocapsídeo. Para contornar esta situação, a partícula vírica faz interações do nucleocapsídeo com componentes celulares. Partículas víricas de tamanho superior são desintegradas ou deformadas, ao mesmo tempo, partículas víricas de tamanho compatível adentram intactas.

Nos vírus DNA, durante a expressão gênica, o genoma viral dependerá da maquinaria celular para codificação de proteínas (RNA mensageiro) que auxiliaram no processo de replicação, com exceção dos vírus DNA *poxvírus* e *asfarvírus*, que não são dependentes da maquinaria celular. Já nos vírus RNA, a codificação de proteínas utiliza vias alternativas para síntese do RNA mensageiro, sem dependência da maquinaria celular, com exceção dos retrovírus.

No caso dos vírus RNA, a expressão gênica é mediada de duas formas: para os vírus RNA de polaridade positiva, o RNA mensageiro é traduzido integralmente ou parcialmente no ribossomo. Os vírus RNA de polaridade negativa são dependentes da enzima RNA polimerase, a qual é responsável por iniciar o processo de replicação.



Refleta

Vírus RNA de sentido positivo precisa da estrutura denominada *cap* na extremidade 5' (*cap 5'*) ou a estrutura IRES (*entrada interna de ribossomo*) para ser traduzido diretamente no ribossomo.

Vírus RNA de sentido negativo precisa que enzima RNA polimerase sintetize RNA mensageiros com *cap* na extremidade 5' e cauda com poliadenilados (poliA) na extremidade 3'.

Replicação do genoma

As características da replicação do genoma são específicas de acordo com o tipo de vírus (DNA ou RNA). De acordo com a classificação de Baltimore (1971), os vírus são agrupados em 7 classes.



Pesquise mais

Conheça as 7 classes propostas por Baltimore. Acesse o link disponível em: <<https://pt.wikipedia.org/wiki/V%C3%ADrus>>. Acesso em: 27 maio 2016. e descubra mais sobre esta classificação.

A replicação do genoma dos vírus DNA é totalmente dependente da estrutura celular para que ocorra a codificação das proteínas, que varia de acordo com o grau de complexidade do vírus (simples ou complexo). Em grande parte dos vírus DNA, a replicação do genoma ocorre no núcleo celular, com exceção de alguns vírus que ocorrem no citoplasma. A replicação do genoma utiliza fatores celulares, regulatórios e enzimas que auxiliam na transcrição do RNA mensageiro, o qual é utilizado na tradução de proteínas.

Características estruturais como topologia (circular, linear) e organização genômica (fita dupla ou fita simples) podem diferenciar os constituintes (fatores celulares, regulatórios e proteínas não-estruturais) que participam no mecanismo de replicação e nas formas (linear, bidirecional, contínua, semidescontínua e círculo rolante) que ocorrerá a tradução. Características mais detalhadas do processo de replicação podem ser estudadas em cada uma das classes dos vírus DNA (vírus de classe Ia, Ib, II e VII).

O ciclo replicativo dos vírus RNA, em sua maioria, ocorre no citoplasma e é mediado por enzimas polimerases de RNA (*transcriptase* ou *replicases*). As enzimas estarão presentes no material genético dos vírus RNA ou serão sintetizadas durante a codificação de proteínas (células eucarióticas não possuem essas enzimas). Nos vírus RNA de polaridade positiva a tradução ocorre diretamente.

Já os vírus RNA de polaridade negativa, a enzima RNA polimerase deve ser carregada para dentro do genoma, a qual auxiliará na transcrição do RNA mensageiro de sentido antígenômico, o qual servirá de molde para tradução do RNA no sentido genômico. Características mais detalhadas do processo de replicação podem ser estudadas em cada uma das classes dos vírus RNAs (vírus da classe III, IVa, IVb, V e VI).



Refleta

Os vírus RNA de polaridade positiva são considerados infecciosos. A fita de RNA positiva por si só é suficiente para que ocorra tradução.

Os vírus RNA de polaridade negativa não são considerados infecciosos. A enzima polimerase de RNA deve ser carregada para dentro do genoma para ocorra a transcrição do RNA mensageiro e posterior tradução.

Morfogênese

Diferentes estruturas compõem os vírus, as quais podem ser simples ou complexas. Após o ciclo de replicação do genoma (DNA ou RNA), a constituição da partícula vírica se inicia com formação do capsídeo (morfogênese). O capsídeo é formado pela associação de subunidades proteicas (protômeros) que constituem a unidade morfológica do capsídeo (capsômeros). Durante a formação do capsídeo ocorre a incorporação do genoma no seu interior. Em relação às partículas víricas que possuem envelope, o mesmo é constituído a partir de lipídios (fosfolipídios e colesterol) da membrana da célula hospedeira (mecanismo denominado de brotamento) e as proteínas constituintes são codificadas pelo genoma viral.

Maturação e Egresso da progênie viral

O processo de maturação compreende a finalização da morfogênese da estrutura viral e egresso para o meio extracelular. A maturação ocorrerá em locais diferenciados, conforme a classe viral (DNA ou RNA) e de acordo com o tipo de vírus (com envelope ou sem envelope). Para vírus envelopados, a maturação final, ou seja, a incorporação do envelope (lipídeos de membrana e proteínas codificadas pelo genoma) sobre o nucleocapsídeo poderá ocorrer na membrana do retículo endoplasmático ou na membrana plasmática (mecanismo denominado de brotamento). Em relação ao egresso, três principais mecanismos são descritos: lise, exocitose e associado com o brotamento. Quando ocorre o brotamento nas membranas celulares internas, a liberação ocorre pelo mecanismo de exocitose. Quando a partícula vírica adquire o envelope na membrana plasmática, o egresso ocorrerá em seguida do brotamento. Para vírus sem envelope, o mecanismo de egresso é mediado por lise celular.



Faça você mesmo

Agora você sabe como ocorre a replicação de um vírus DNA e RNA? Descreva suas etapas.

Sem medo de errar

Mediante os conteúdos abordados nesta seção, vamos resolver as questões da situação-problema.

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular principais pontos da situação-problema. O médico veterinário do Serviço Veterinário Oficial coletou diferentes tipos de material biológico (amostras), os quais foram identificados e encaminhados para análise laboratorial. A determinação de coletar diferentes tipos

de materiais biológicos é necessária em função de o vírus suspeito poder infectar diferentes células do hospedeiro.

Na Virologia, o termo infecção é empregado para caracterizar todas as etapas do processo da replicação viral. Derivado do Latim, o termo origina-se da palavra *infere*, que significa penetração. A infecção pode ser produtiva ou abortiva. A primeira é quando a partícula vírica realiza todas as etapas de replicação, já a segunda, a replicação é parcial (interrupção de alguma etapa após penetração na célula hospedeira).

O termo susceptibilidade refere-se à aceitabilidade da célula hospedeira para que ocorra a penetração da partícula vírica, enquanto o termo permissividade está relacionado com as condições do ambiente intracelular para que ocorra as etapas subsequentes da replicação da partícula vírica (replicação, morfogênese, maturação e egresso).



Atenção

O termo infecção é designado quando a partícula viral completa todas as etapas de replicação na célula hospedeira.

Os mecanismos de penetração do material genético da partícula vírica podem ocorrer de forma direta ou específica. No mecanismo direto, a adsorção das proteínas virais ocorre com a membrana lateral da célula de forma simples, que não assegura as etapas subsequentes da replicação da partícula vírica. Os mecanismos específicos podem ocorrer sem prévia internalização (na superfície da célula) ou após internalização (no interior do citoplasma) com a formação de vesículas. As etapas de penetração e internalização da partícula vírica é considerado um processo ativo, o qual é mediado com auxílio de energia proveniente da célula. Dentre os diferentes mecanismos para introduzir o nucleocapsídeo (genoma e proteínas) no interior da célula, pode-se citar a penetração por fusão na superfície celular, a penetração após endocitose (mediada por clatrina, caveolina ou lipídios) e a penetração por fagocitose ou macropinocitose.

Avançando na prática

Vírus da leucose aviária

Para auxiliar o conteúdo das competências que foram atribuídas nesta seção, no parágrafo subsequente vamos apresentar uma nova situação de realidade profissional que se refere ao atendimento clínico de um cão. Nesta situação, aproximaremos os conteúdos teóricos com a prática proposta nesta seção de

ensino. Leia com atenção o atendimento clínico realizado pelo médico veterinário.

Recentemente, um médico veterinário realizou um atendimento clínico em uma propriedade rural. Durante a anamnese, o proprietário do local relatou que a produção de ovos reduziu em comparação com o mês anterior e que 3 galinhas poedeiras morreram na última semana. Após saber do ocorrido, o profissional se deslocou até o galpão em que as galinhas poedeiras permaneciam, onde encontrou mais duas aves mortas. Durante o exame clínico de algumas aves, observou que a maioria estava inapetente, fraca e magra. Na avaliação clínica de 3 aves foi constatada barbela pálida. Em seguida, foi realizada a necropsia das duas aves encontradas mortas, quando foi constatada a presença de nódulos no fígado, baço, intestino e coração. Amostras foram coletadas e identificadas para serem analisadas em laboratório. Com base nos achados clínicos e de necropsia, o médico veterinário suspeitou de leucose aviária. Como exame complementar, foi solicitado o exame ELISA (kits comerciais) para detecção de anticorpos.

Descrição da situação-problema

Em continuidade ao relato de caso apresentado na nova situação de realidade profissional, o exame complementar evidenciou a presença do vírus da leucose aviária, pertencente à família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* (retrovírus e gênero *Alpharetrovirus*, (vírus RNA de classe VI). Mediante os conteúdos abordados nesta seção, responda as questões a seguir: a) Explique a expressão gênica dos vírus DNA e RNA; e b) Explique o processo de maturação e egressão dos vírus DNA e RNA.



Lembre-se

A codificação de proteínas é necessária para que ocorra a replicação dos vírus DNA e RNA.

Resolução da situação-problema

Os exames laboratoriais evidenciaram que as aves foram acometidas por um vírus da família *Retroviridae*. Neoplasia é a principal ocorrência em aves infectadas pelo vírus da leucose aviária.

A expressão gênica dos vírus DNA ocorre no núcleo da célula, a qual é totalmente dependente para a codificação de proteínas (RNA mensageiro) para que ocorra a replicação da partícula vírica. Durante esta etapa, o nucleocapsídeo interage com os componentes celulares para contornar barreiras (tamanho de poros) impostas durante a entrada ao núcleo. Assim, partículas víricas de tamanho superior são desintegradas ou deformadas, enquanto as partículas víricas de tamanho compatível adentram intactas.

Para os vírus RNA, a codificação de proteínas utiliza vias alternativas para síntese do RNA mensageiro e sem dependência da maquinaria celular. A expressão gênica será mediada conforme a classe da partícula vírica vírus RNA de polaridade positiva e vírus RNA de polaridade negativa. Para os vírus RNA de polaridade positiva, o RNA mensageiro é traduzido integralmente ou parcialmente no ribossomo, enquanto nos vírus RNA de polaridade negativa, a expressão gênica somente ocorrerá com auxílio da enzima RNA polimerase, a qual inicia o processo de síntese do RNA mensageiro.

O processo de maturação compreende a finalização da morfogênese e o egresso da partícula vírica para o meio extracelular. O local de maturação da partícula vírica ocorrerá de acordo com as características dos vírus (com envelope ou sem envelope). Nos vírus desprovidos de envelope, a maturação ocorre no núcleo para vírus DNA e no citoplasma para maioria vírus RNA, com algumas exceções. No caso de vírus envelopados, a maturação final ocorrerá quando o envelope for incorporado sobre o nucleocapsídeo, na membrana do retículo endoplasmático ou na membrana plasmática.

No processo de egressão, as partículas víricas podem ser liberadas por lise celular para os vírus DNA ou RNA sem envelope. Já os vírus envelopados (DNA ou RNA) o processo ocorrerá por exocitose, quando o nucleocapsídeo é recoberto nas membranas internas dos componentes celulares. Por outro lado, quando a partícula vírica adquire o envelope na membrana plasmática o egresso ocorrerá em seguida do brotamento.



Faça você mesmo

Mediante o conteúdo abordado nesta seção, pesquise mais sobre a replicação das classes Ia, Ib, II e VII que compõem os vírus DNA, e as classes III, IVa, IVb, V e VI que compõem os vírus RNA. Utilize o material de apoio: Flores, E. F. **Virologia Veterinária**: virologia geral e doenças víricas. 2. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2012. 1008 p.

Faça valer a pena

1. Quando ocorre uma replicação parcial da partícula vírica, qual o termo correto para denominar esse processo?

Assinale a alternativa correta:

- a) Infecção produtiva.
- b) Infecção celular.
- c) Processo incompleto de maturação.

- d) Infecção abortiva.
- e) Processo incompleto de penetração.

2. A célula hospedeira apresenta particularidades ou fatores que impedem ou permitem o processo de infecção. O termo permissividade refere-se a que situação?

Assinale a alternativa correta:

- a) Refere-se à codificação de proteínas presentes na membrana plasmática.
- b) Refere-se às condições do ambiente intracelular para que ocorra o processo de replicação viral.
- c) Refere-se à fase de maturação da partícula vírica.
- d) Refere-se a um processo completo de maturação.
- e) Refere-se à ausência de receptores na estrutura do envelope.

3. A primeira etapa de replicação do vírus DNA e RNA é denominada _____ e a segunda etapa _____.

Assinale a alternativa correta que completa a ordem das lacunas:

- a) Penetração e egresso.
- b) Penetração e adsorção.
- c) Maturação e penetração.
- d) Replicação e egresso.
- e) Adsorção e penetração.

Seção 1.3

Diagnóstico virológico

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos o princípio dos métodos diretos de diagnóstico envolvendo a detecção de antígenos e ácidos nucleicos dos agentes virais, tais como imunocromatografia e reação em cadeia pela polimerase. Para auxiliar o conteúdo abordado, vamos acrescentar novas informações à situação-problema referente ao relato de caso apresentado no *Convite ao estudo*. Dessa forma, você participará indiretamente na resolução do caso.

Em continuidade ao relato de caso apresentado na situação de realidade profissional, o Serviço Veterinário Oficial (SVO) foi notificado da suspeita de febre aftosa (vírus pertencente à família *Herpesviridae*). Diferentes tipos de amostras foram coletados, identificados e enviados para análise laboratorial (Laboratórios Nacionais Agropecuários – LANAGRO), o qual é vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Dentre os vários fatores que podem comprometer as análises laboratoriais, o procedimento de coleta, acondicionamento, e quantidade, são pontos determinantes para obter um bom resultado. De acordo com o responsável técnico do LANAGRO, amostras estavam adequadamente acondicionadas e conservadas, porém algumas continham pouco material para prosseguir com as análises laboratoriais. As amostras continham diferentes materiais biológicos (fragmentos do epitélio vesicular das regiões orais, nasais e interdigitais; líquido esofágico-faríngeo; e soro sanguíneo) e eram de diferentes espécies animais (bovino e suíno). Para as amostras que continham pouco material biológico, o técnico elegeu o método de reação em cadeia pela polimerase (PCR) em tempo real. Assim sendo, mediante os conteúdos abordados nesta seção, explique o método PCR em tempo real utilizado para detecção do agente viral.

Não pode faltar

Nesta seção abordaremos os métodos diretos de diagnóstico envolvendo a detecção de antígenos e ácidos nucleicos dos agentes virais. Vamos iniciar os estudos!

Princípios dos métodos diretos de diagnóstico envolvendo a detecção de antígenos e ácidos nucleicos dos agentes virais: imunocromatografia e reação em cadeia pela polimerase.

O diagnóstico laboratorial é uma etapa complementar da investigação clínica e epidemiológica da enfermidade que está acometendo o animal. O sucesso do resultado laboratorial está diretamente correlacionado com as ações mediadas pelo profissional de campo (investigação clínico-patológica, epidemiológica, coleta, identificação e envio do material) e pelo técnico laboratorial (aplicação de técnicas adequadas para identificação da partícula vírica) na eleição do método de diagnóstico, bem como na interpretação dos resultados com base nas informações de epidemiologia, patogenia e imunologia da doença suspeita. O material biológico a ser enviado para análise laboratorial deve ser acompanhado do histórico clínico (apresentando o maior número possível de informações), o qual será importante para o planejamento e direcionamento do método de diagnóstico laboratorial mais apropriado.

Diferentes métodos podem ser empregados para detecção do agente viral. A confirmação da presença do vírus poderá ser realizada com o auxílio de técnicas que demonstre diretamente o agente ou a partir dos produtos intermediários gerados durante o processo replicativo da partícula vírica ou a partir de seu componente genético. Dessa forma, os métodos de detecção de agentes variam em diretos (o agente viral é detectado diretamente) e indiretos (propriedades biológicas ou produtos decorrentes da multiplicação viral), os quais serão utilizados de acordo com as características, quantidades e qualidade do material biológico, bem como do tipo da partícula vírica. Da mesma forma, a capacitação da mão da obra e dos recursos disponíveis no laboratório são determinantes para a eleição do método a ser aplicado. Em determinados casos, preconiza-se a utilização de dois ou mais métodos de eleição para um diagnóstico definitivo.



Assimile

Métodos diretos: detectam vírus, antígenos e/ou ácidos nucleicos.

Métodos indiretos: detectam anticorpos específicos contra o vírus.

Coleta de amostras

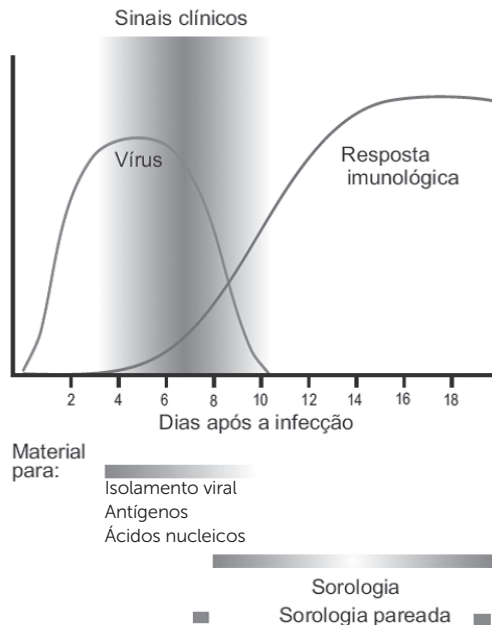
O material biológico a ser encaminhado para o laboratório deverá apresentar quantidade suficiente e uma conservação adequada para que o método de eleição apresente bons resultados. Neste sentido, o profissional de campo deve possuir conhecimento suficiente para determinar a escolha do material biológico a ser encaminhado, bem como os procedimentos que serão adotados para o acondicionamento (recipientes ou frascos) e conservação (soluções ou procedimentos adotados) das amostras, que deverão chegar em tempo hábil no laboratório para que não comprometa a detecção do agente viral.



Refleta

Compreender a cinética da infecção viral em conjunto com a resposta imunológica do organismo animal é importante para estabelecer o exame laboratorial mais adequado e o tipo de material biológico nas diferentes fases da infecção viral.

Figura 1.7 | Infecção viral, resposta imunológica e indicação do momento de coleta de material para diagnóstico laboratorial



Fonte: adaptado de Flores (2012).

As embalagens (tubos de vidros ou plástico, sacos plásticos) a serem utilizadas devem ser rotuladas (evitar rótulos de papel que deterioram ou desprendem quando umedecidos), identificadas (caneta de tinta permanente ou lápis) individualmente, lacradas e acondicionadas de forma a evitar a ruptura ou quebra do recipiente durante o transporte. A seguir, na Figura 1.8, vamos apresentar outros cuidados a serem seguidos conforme o tipo de material biológico a ser coletado.

Figura 1.8 | Procedimentos adotados para encaminhamento de diferentes materiais biológicos para análise laboratorial

Material biológico	Procedimento
Secreções nasais, oculares ou genitais	Recomenda-se utilizar <i>swab</i> para a coleta.
Tecidos e fragmentos de órgãos	A coleta deve ser individual e assepticamente em frascos (plástico ou vidro) estéreis.
Fetos abortados	Os fetos podem ser submetidos à necropsia para a coleta de tecidos e órgãos ou encaminhados inteiros.
Plasma sanguíneo	Utilizar tubos estéreis (plástico ou vidro), minimizar a hemólise e utilizar citrato, heparina ou EDTA como anticoagulante. Recomenda-se coletar de 2 a 3 mL para pequenos animais e de 5 a 10 mL para grandes animais.
Soro sanguíneo	Utilizar tubos estéreis (plástico ou vidro) sem anticoagulantes e minimizar a hemólise. Recomenda-se coletar de 2 a 3 mL para pequenos animais e de 5 a 10 mL para grandes animais.
Fezes	Preferencialmente coletadas da ampola retal.

Fonte: adaptado de Flores (2012).

Após coleta, o material biológico deve ser submetido ao processo de conservação. As amostras devem ser armazenadas em condições de baixa temperatura e encaminhadas para o laboratório de forma mais rápida possível. Em situações em que o intervalo varia de 2 a 3 dias, as amostras podem ser transportadas em ambiente refrigerado a 4°C. Entretanto, se o intervalo ultrapassar 3 dias, recomenda-se o congelamento das amostras (-20°C ou -70°C). Para amostras sanguíneas, o processo de congelamento não deve ser adotado, somente a 4°C. Como recipientes, recomenda-se utilizar caixas térmicas com revestimento interno impermeável, para que não ocorra vazamentos durante o transporte. Juntamente com a amostra, o profissional de campo deve emitir um relatório (histórico) detalhado, no qual deverá constar informações que podem auxiliar o técnico do laboratório na eleição do método de diagnóstico mais adequado e, quando necessário, proceder mais de um método de diagnóstico.



Exemplificando

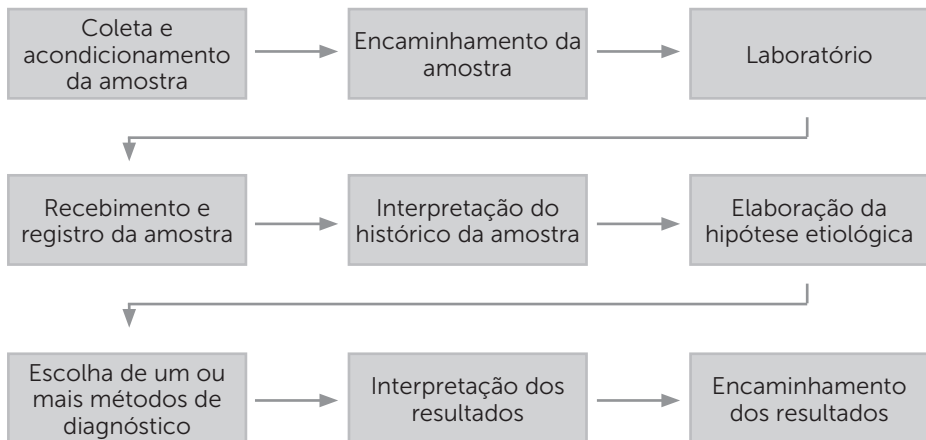
Enfermidades respiratórias: recomenda-se coletar secreções nasais, aspiradas, da nasofaringe, trato respiratório superior, pulmões.

Enfermidades sistêmicas: recomenda-se coletar secreções nasais, fezes, soro, sangue integral, linfonodos, baço.

Enfermidades do trato reprodutivo: recomenda-se coletar placenta, líquidos fetais, timo, baço, pulmão, cérebro.

O procedimento de eleição do método de diagnóstico e as etapas dos procedimentos adotadas para manipulação das amostras variam de acordo com o laboratório. Para exemplificar melhor as etapas de processamento, a figura 1.9 exemplifica o encaminhamento de uma amostra para ser analisada em um determinado laboratório.

Figura 1.9 | Fluxograma de encaminhamento e processamento de amostras para análise laboratorial



Fonte: adaptado de Flores (2012).

De acordo com o tipo de material biológico, os procedimentos podem variar para melhor se adequar ao método de diagnóstico de eleição. É importante ressaltar que as interpretações dos resultados devem ser realizadas em conjunto com o histórico clínico gerado pelo profissional de campo. Dessa forma, as informações do histórico clínico devem ser precisas e confiáveis para evitar diagnósticos equivocados.

Métodos de diagnóstico

Mesmo que determinadas enfermidades possam ser diagnosticadas pelos aspectos clínicos, o diagnóstico laboratorial é uma ferramenta indispensável para confirmar a presença do agente viral, além de direcionar ações adequadas para o tratamento da enfermidade e para a prevenção de futuras infecções virais. Diferentes métodos de diagnósticos podem ser utilizados para a detecção do agente viral que compreendem em diretos (microscopia eletrônica; isolamento em cultivo celular; hemaglutinação; detecção de antígenos “imunofluorescência, imunoperoxidase, imunoenzimáticos, cromatográficos”; e detecção de ácidos nucleicos “reação da polimerase em cadeia”) e indiretos (testes sorológicos “imunodifusão em gel de ágar, ELISA, soroneutralização, fixação do complemento, inibição da hemaglutinação, imunofluorescência para anticorpos e imunocromatografia).

Vários métodos estão disponíveis no mercado, porém alguns critérios devem ser aplicados para a eleição do método de diagnóstico na detecção do agente viral. Dentre estes critérios, pode-se citar: sensibilidade, especificidade, rapidez, simplicidade, reprodutibilidade, automação e baixo custo. Dessa forma, vamos estudar dois métodos que podem ser empregados na rotina de laboratório e que emitem resultados confiáveis: imunocromatografia e a reação em cadeia pela polimerase.

Imunocromatografia

Os testes imunocromatográficos são apresentados em dispositivos portáteis confeccionados em material plástico, os quais compreendem em diferentes formatos: imunocromatografia de fluxo lateral, imunocromatografia de dupla migração, imunocôncntração ou de fase sólida. Este método de diagnóstico é considerado um teste rápido e de fácil utilização a campo, o qual permite o monitoramento qualitativo. O princípio do teste se baseia em uma técnica simples, que compreende a reação antígeno-anticorpo. A amostra suspeita com a partícula vírica reagirá com o anticorpo específico. Quando positivo, a presença do antígeno será revelada com o aparecimento de bandas ou focos de coloração diferenciada. Normalmente, esta técnica tem sido utilizada em campo, em clínicas e ambulatórios pela simplicidade e pelo baixo custo.



Pesquise mais

Conheça o teste de Imunocromatográfico de fluxo lateral. Acesse o *link* disponível em: <http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_232>. Acesso em: 20 mar. 2016.

Reação em cadeia pela polimerase

A reação em cadeia pela polimerase (PCR) é um método de diagnóstico que se baseia na amplificação do número de moléculas de ácidos nucleicos existente na amostra. O método pode ser aplicado para diagnóstico de qualquer agente viral e em qualquer fase da infecção viral, desde que contenha moléculas ou fragmentos de ácido nucleico. A técnica permite a obtenção dos resultados em poucas horas, possui alta sensibilidade e especificidade, além de poder ser aplicada em amostras que passaram por processos inadequados de armazenamento e em amostras com pouco material biológico.

O método de diagnóstico PCR depende de um gradiente de temperatura que compreende três etapas: desnaturação (95°C), anelamento (57°C) e extensão (72°C). Os materiais a serem utilizados durante o processo de amplificação são: amostra (material biológico), primers, Taq DNA polimerase e nucleotídeos (dNTPs – Adenina, citosina, guanina e timina). Para alcançar uma quantidade suficiente da sequência alvo, são necessários 36 ciclos. Em cada ciclo a amplificação é exponencial, facilitando o aumento da sequência alvo. Na primeira etapa, a amostra será submetida a um processo de desnaturação (95°C), promovendo a separação da hélice da molécula de ácido nucleico. Na segunda etapa, a temperatura é reduzida para que ocorra a anelagem dos *primers* (57°C), que irá delimitar a região-alvo que irá ocorrer a amplificação. Posteriormente, na terceira etapa, a temperatura é elevada a 72°C para que a enzima termoestável (Taq DNA polimerase) possa inserir os nucleotídeos na região-alvo para formação das cadeias complementares, assim finalizando o primeiro ciclo de um total de 36.



Vocabulário

Primers: indicadores iniciais constituídos de oligonucleotídeos que delimitam a região-alvo a ser amplificada na fita do ácido nucleico.

Com o avanço tecnológico, a técnica PCR tem sido aperfeiçoada, e diferentes procedimentos foram elaborados como *nested-PCR*, *multiplex-PCR*, *RT-PCR* e *real-time PCR*. Dentre as técnicas, o PCR em tempo real tem sido aprimorado para ser executado a campo com a utilização de termocicladores portáteis, os quais são acoplados em computadores e com auxílio de um software capta e quantifica o sinal emitido de cada ciclo. Essa técnica (PCR em tempo real) permite detectar, quantificar e amplificar a molécula do ácido nucleico no decorrer do processo, que, além do *primer* (indicador inicial) a técnica é mediada por uma sonda que contém substâncias (fluoróforos) indicadoras que são liberadas durante o ciclo de amplificação.



Pesquise mais

Conheça o método de reação em cadeia pela polimerase em tempo real. Acesse o link disponível em: <<http://www.biotechnologia.com.br/revista/bio33/pcr.pdf>>. Acesso em: 20 mar. de 2016.

Sem medo de errar

Mediante os conteúdos abordados nesta seção, vamos resolver as questões da situação-problema.

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os principais pontos da situação-problema. Conforme o responsável técnico do LANAGRO, as amostras estavam adequadamente armazenadas, porém algumas continham pouco material para prosseguir com as análises laboratoriais. Desta forma, o técnico elegeu o método de reação em cadeia pela polimerase (PCR) em tempo real para as amostras que continham pouco material biológico.

A técnica eleita pelo técnico laboratorial permite a detecção do agente viral em amostras com pouco material biológico. O princípio da técnica é baseado na amplificação do número de moléculas ou fragmentos de ácidos nucleicos presentes na amostra. Dentre os materiais a serem utilizados teremos: amostra (material biológico), *primers*, Taq DNA polimerase (enzima termoestável) e nucleotídeos (dNTPs – Adenina, citosina, guanina e timina). Com auxílio de um termociclador, a molécula ou fragmento de ácido nucleico (amostra) passa por um processo de desnaturação (95°C) que promove a separação da dupla hélice da molécula de ácido nucleico. Na sequência, a temperatura é reduzida (50 a 60°C) para ocorrer a ligação dos *primers* com a fita de ácido nucleico, o qual delimita a região a ser amplificada. Posteriormente, a temperatura é elevada a 72°C para que a enzima Taq DNA polimerase possa atuar. A enzima Taq DNA polimerase irá inserir os nucleotídeos (bases nitrogenadas) para formação das cadeias complementares, finalizando o primeiro ciclo do teste de PCR.



Atenção

Para se obter uma quantidade suficiente da sequência alvo é necessário executar 36 ciclos de termociclagem.

Avançando na prática

Influenza equina

Para auxiliar no conteúdo das competências que foram atribuídas nesta seção, no parágrafo subsequente vamos apresentar uma nova situação de realidade profissional, que se refere ao atendimento clínico. Nesta situação, aproximaremos os conteúdos teóricos com a prática proposta nesta seção de ensino. Leia com atenção o atendimento clínico realizado pelo médico veterinário.

Recentemente, o médico veterinário realizou um atendimento clínico de um equino em uma propriedade rural. O proprietário relatou que o animal vinha apresentando sintomatologia respiratória há uma semana, após ter participado de uma cavalgada na cidade vizinha. Durante o exame, o médico veterinário constatou secreção nasal serosa, hipertermia, anorexia, fraqueza e tosse não produtiva. Amostras de secreção nasal foram coletadas, acondicionadas em um frasco estéril e identificadas. Da mesma forma, foi realizada coleta de sangue para obtenção de plasma sanguíneo (tubo de 5 mL contendo EDTA). As amostras foram identificadas individualmente, acondicionadas em recipientes apropriados e encaminhadas para análise laboratorial. Com base nos achados clínicos, o médico veterinário suspeitou de um agente viral. Dessa forma, foi solicitado um exame de rotina (hemograma) e um exame complementar (reação em cadeia pela polimerase - PCR) para detecção de agente viral. Para exame de PCR, o médico veterinário precisou enviar as amostras para um laboratório a 700 km, já o hemograma foi realizado em um laboratório na cidade vizinha.

Descrição da situação-problema

Em continuidade ao relato de caso apresentado na nova situação de realidade profissional, o exame de PCR detectou a presença do vírus Influenza equina. O vírus da Influenza equina pertence à família *Orthomyxoviridae*, gênero *Influenzavirus A* e subtipo H8N8. Mediante os conteúdos abordados nesta seção, responda à questão a seguir: a) Explique como deve ser o procedimento de acondicionamento das amostras para serem encaminhadas para o laboratório.



Lembre-se

A interpretação dos resultados deverá ser realizada em conjunto com o histórico clínico gerado pelo profissional de campo.

Resolução da situação-problema

O material biológico deve ser submetido ao processo de conservação imediatamente após coleta. Em situações em que o intervalo varia de 2 a 3 dias, as amostras podem ser transportadas em ambiente refrigerado a 4°C. Entretanto, se o intervalo ultrapassar 3 dias, recomenda-se o congelamento das amostras (-20°C ou -70°C). Para amostras sanguíneas, o processo de congelamento não deve ser adotado, somente a 4°C.

Como recipientes, recomenda-se utilizar caixas térmicas com revestimento interno impermeável, para que não ocorra vazamentos durante o transporte. Juntamente com a amostra, o profissional de campo deve emitir um relatório (histórico) detalhado, o qual constará informações que podem auxiliar o técnico do laboratório na eleição do método de diagnóstico mais adequado e, quando necessário, proceder mais de um método de diagnóstico.



Faça você mesmo

Pesquise e estude o método indireto ELISA. Utilize o material de apoio: Flores, E. F. **Virologia Veterinária**: virologia geral e doenças víricas. 2. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2012. 1008 p.

Faça valer a pena

1. O _____ é uma etapa complementar da investigação clínica e epidemiológica da enfermidade em auxilia na detecção do agente viral.

Assinale a alternativa correta que completa as lacunas:

- a) Tipo de animal.
- b) Diagnóstico laboratorial.
- c) Processo de desnaturação das amostras.
- d) Processo viral.
- e) Processo incompleto de penetração.

2. O profissional de campo deve possuir conhecimentos suficientes para determinar a escolha do _____ a ser encaminhado, bem como os procedimentos adotados de _____ e _____ das amostras.

Assinale a alternativa correta que completa as lacunas:

- a) Material biológico, acondicionamento e conservação.
- b) Tipo de partícula vírica, acondicionamento e conservação.
- c) Tipo de frasco, acondicionamento e conservação.
- d) Processo de higiene, conservação e material biológico.
- e) Tipo de processo de conservação, acondicionamento e material biológico.

3. Para a coleta de plasma sanguíneo pode-se utilizar tubos com _____, _____ e/ou _____, e para coleta de soro utiliza-se tubos _____.

Assinale a alternativa correta que completa as lacunas:

- a) EDTA, citrato ou heparina e sem anticoagulantes.
- b) EDTA, citrato ou heparina e com anticoagulantes.
- c) Heparina, citrato ou EDTA e com anticoagulantes.
- d) Citrato, EDTA ou citrato e com anticoagulantes.
- e) Dióxido de carbono, EDTA ou heparina e sem anticoagulantes.

Seção 1.4

Etio patogenia viral

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos os efeitos citopáticos e as alterações morfológicas que os vírus podem causar na célula hospedeira. Para auxiliar o conteúdo abordado, vamos acrescentar novas informações na situação-problema referente ao relato de caso apresentado no *Convite ao estudo*. Dessa forma, você participará indiretamente da resolução do caso.

Em continuidade ao relato do caso, o técnico laboratorial recebeu um laudo contendo informações detalhadas das lesões observadas durante o exame clínico. De acordo com o médico veterinário, a replicação viral pode ocorrer em diferentes órgãos ou tecidos do animal, sendo necessária a coleta de diferentes materiais biológicos. Durante o exame clínico, o médico veterinário observou que os animais continham lesões vesiculares intactas no nariz, vesículas rompidas na mucosa bucal e língua, além de erosões com úlceras. Com base nos achados clínicos, a infecção viral causou danos nas células do hospedeiro. Com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões a seguir: cite os possíveis efeitos citopáticos que os vírus podem causar na célula hospedeira. Explique os efeitos causados no sistema imune com o acúmulo de imunocomplexos.

Não pode faltar

Nesta seção abordaremos os efeitos citopáticos e as alterações morfológicas que os vírus podem causar na célula hospedeira. Vamos iniciar os estudos!

Efeito citopático dos vírus e alterações morfológicas

A interação entre produtos virais e componentes celulares da célula hospedeira é complexa, o que pode resultar ou não em um efeito em nível celular ou de hospedeiro. Normalmente, quando observados sinais clínicos em animais acometidos por doenças víricas, estes são decorrentes da resposta do hospedeiro

à injúria celular e/ou tecidual (perceptíveis visualmente).

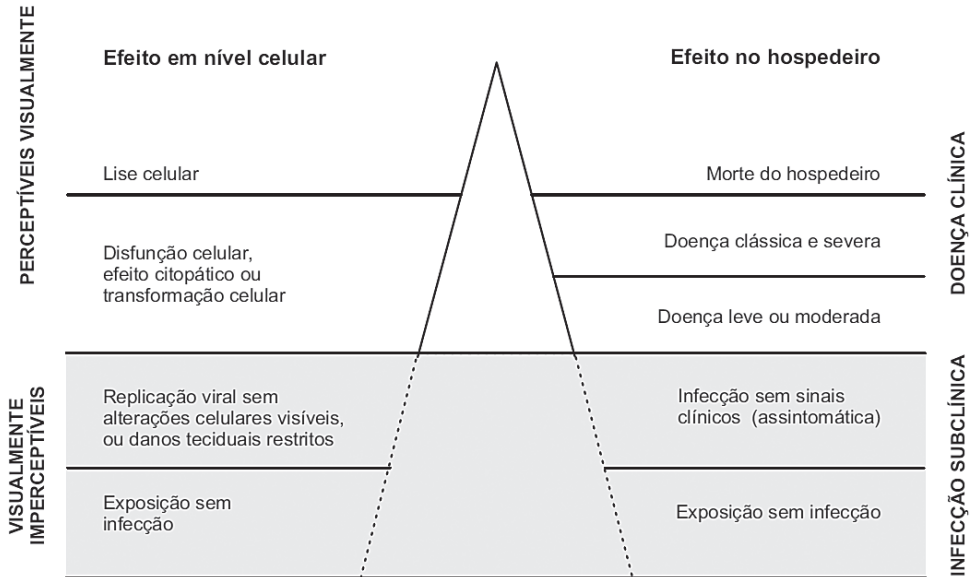
No processo de infecção viral, os vírus desenvolvem interações com os componentes celulares modificando a fisiologia celular da célula hospedeira. Os produtos oriundos dessa interação (produtos virais ou acúmulo de proteínas e ácidos nucleicos) podem causar efeitos citopáticos, como: lise celular, arredondamento, vacuolização, formação de sincícios, inclusões, picnose e apoptose.



Refleta

Efeito citopático: refere-se às alterações morfológicas observadas em células infectadas por agentes virais.

Figura 1.10 | Conceito de iceberg do processo infeccioso, relação entre infecção e doença em nível celular e de hospedeiro



Fonte: adaptado de Flores (2012).

A destruição celular decorrente de infecções causadas por vírus nos tecidos-alvo, bem como as alterações fisiológicas decorrentes das lesões teciduais são responsáveis pelo desenvolvimento da doença.



Assimile

Efeito em nível celular: pode ser visualmente imperceptível ou perceptível.

Efeito no hospedeiro: pode ser uma doença subclínica ou clínica.

Interação de produtos virais e componentes celulares

A patogênese viral consiste em diversas fases que se inicia com a penetração do vírus na célula hospedeira, replicação viral, disseminação do vírus, lesão celular, resposta imunológica do hospedeiro, eliminação do vírus ou estabelecimento da infecção persistente e disseminação viral. Cada agente viral desencadeará interações específicas com a célula hospedeira (formação de canais iônicos, atuação no processamento e transporte de RNA mensageiro, inibição da tradução de RNA mensageiro, inibição da síntese de DNA e alguns casos estimulam a síntese de DNA para disponibilizar condições e componentes para a replicação viral) a fim de completar o ciclo replicativo.

Em determinados casos, alguns agentes virais são indutores de células tumorais (benignas ou malignas), tais como os vírus DNA (adenovírus, hepadnavírus, papilomavírus e poliomavírus) e RNA (retrovírus).



Exemplificando

- Vírus herpes simplex: produz a proteína ICP 27, a qual desencadeia um efeito inibitório sobre o transporte e processamento do RNA mensageiro.
- Adenovírus: produz algumas proteínas denominadas de E1B-55K e E4-34K, que promovem o bloqueio na acumulação de RNA mensageiros celulares no citoplasma.
- Vírus da influenza: produz a proteína M2, produz canais iônicos na membrana dos endossomos para o transporte de íons de H⁺ para o interior da célula (acidificando o pH), os quais facilitam o processo de fusão e desnudamento do nucleocapsídeo.

Em outras situações, os agentes virais desencadeiam interações que interferem no processo de apoptose celular (morte celular programada). Processo pelo qual tem como objetivo favorecer a conclusão do ciclo replicativo do vírus. Diversos efeitos são desencadeados durante a interação das proteínas virais com a célula hospedeira, tais como: modificação, localização e maturação de proteínas; aumento da permeabilidade da membrana plasmática; desorganização ou ruptura do citoesqueleto da célula hospedeira; formação de estruturas com morfologia mais ou menos definidas no citoplasma ou no núcleo da célula infectada “corpúsculos de inclusão”.



Vocabulário

Patogenicidade: capacidade de um agente produzir doença no hospedeiro.

Virulência: nível de severidade da doença causada por um agente.

Tropismo: predileção de um vírus por determinadas células ou tecidos.

Efeitos nas células hospedeiras

No processo de replicação viral (interação entre agente viral e célula hospedeira), os produtos virais oriundos da replicação viral podem afetar negativamente a fisiologia celular, resultando em patologia celular. Cada efeito citopático desenvolvido na célula hospedeira será característico de acordo com os tipos de vírus e com a função dos diferentes mecanismos utilizados por eles para se replicarem. Dentre os efeitos causados, pode-se citar:

- Alterações morfológicas (citomegalia e arredondamento celular);
- Lise celular;
- Fusão celular (formação de células gigantes denominadas de sincícios);
- Formação de vacúolos (citoplasmático);
- Formação de corpúsculos de inclusão (citoplasmático ou nucleares).



Pesquise mais

Leia o artigo “Visualização de Inclusão Viral em Hemácias – Relato de Caso”. Acesse o *link* disponível em: <www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0539-1.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2016.

Dentre os efeitos citopáticos apresentados anteriormente, a lise celular é considerada a patologia mais severa em uma infecção viral. Causada por vírus denominados de citolíticos, a absorção do líquido extracelular desencadeia a lise celular, que leva à morte e à desintegração celular. É importante ressaltar que vírus não-citolíticos também podem desencadear patologias severas e levar à morte do hospedeiro. A maioria das doenças causadas pelos vírus não-citolíticos pode ser decorrente da resposta imunológica do hospedeiro.



Vocabulário

Vírus citopático: a replicação resulta em citopatologia.

Vírus não-citopático: a replicação não resulta em citopatologia.

Efeitos no sistema imunológico

O sistema imunológico tem como função desencadear uma resposta imunológica contra as infecções víricas com o objetivo de eliminar ou neutralizar as partículas virais. De acordo com o grau de lesão celular (órgãos envolvidos), o sistema imunológico irá produzir uma resposta imunológica. A infecção viral desencadeia uma resposta imunológica diferente à resposta de um agente bacteriano patogênico. Enquanto os leucócitos polimorfonucleares são ativados em resposta à inflamação aguda de um agente bacteriano, as células mononucleares e linfócitos atuam em resposta a uma inflamação causada pelas lesões virais. Os linfócitos T citotóxicos reconhecem os polipeptídeos virais da superfície celular de células infectadas, lesionando-as. Entretanto, durante esse processo, os vírus podem desenvolver diferentes imunopatologias (autoimunidade e deposição de imunocomplexos) que poderão causar lesões celulares.

- **Autoimunidade:** é um processo que pode ocorrer em determinadas infecções víricas. Neste processo, ocorre a estimulação antigênica de proteínas virais, semelhantes às proteínas presentes no hospedeiro, ou devido algum distúrbio durante o processo de ativação dos linfócitos, produzindo anticorpos contra proteínas próprias.
- **Imunocomplexos:** formados por anticorpos ligados a partículas víricas ou antígenos virais. A doença imunológica ocorrerá quando a produção de imunocomplexos excedem a capacidade de eliminação do organismo. Da mesma forma, os imunocomplexos contêm vírus viáveis que podem penetrar em células como macrófagos e linfócitos ativados. Doenças infecciosas como hepatite infecciosa canina, imunodeficiência felina, peste suína clássica, anemia infecciosa equina, entre outras, desenvolvem lesões glomerulonefrite em função do acúmulo dos imunocomplexos

nos glomérulos renais. Infecções secundárias, como estomatite crônica, gengivites, lesões de pele e abscessos subcutâneos podem surgir em casos que ocorre a depleção linfoide.

De modo geral, as alterações imunológicas mediadas pelas infecções víricas podem aumentar a suscetibilidade a infecções secundárias e interferir negativamente em uma resposta imunológica contra a própria infecção e diversos outros agentes virais.

Figura 1.11 | Alterações imunológicas e seus mecanismos de indução

Família	<i>Herpesviridae</i>	<i>Retroviridae</i>	<i>Parvoviridae</i>	<i>Coronaviridae</i>
Alterações imunológicas				
Suscetibilidade a infecções	+	+		+
Proliferação linfoide reduzida	+	+	+	+
Aumento de imunoglobulinas	+	+	+	
Mecanismos				
Replicação em células imunológicas	+	+	+	+
Ativação do sistema imune	+	+		
Produtos de monócitos de linfócitos T-helper	+	+		
Proteínas virais	+	+		

Fonte: adaptado de Flores (2012).

Sem medo de errar

Mediante os conteúdos abordados nesta seção, vamos resolver as questões da situação-problema.

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os principais pontos da situação-problema. O técnico laboratorial recebeu amostras para análise de diferentes materiais biológicos coletados de um mesmo animal. Em conjunto com as amostras, o médico veterinário encaminhou um laudo técnico contendo informações detalhadas das lesões observadas durante o exame clínico, o que justificou a coleta de diferentes materiais biológicos de um mesmo animal. Foram observadas durante o exame clínico lesões vesiculares intactas e rompidas. De acordo com as informações, pode-se concluir que a infecção viral causou

efeitos citopáticos nas células do hospedeiro.

Em resposta à infecção viral, o sistema imune do animal irá desencadear uma resposta imunológica para eliminar ou neutralizar o agente agressor. Dessa forma, anticorpos são produzidos pelo sistema imune, e se ligam às partículas víricas ou antígenos virais, formando imunocomplexos. Quando o acúmulo destes imunocomplexos excedem a capacidade de eliminação do organismo, lesões são desenvolvidas nos glomérulos renais (glomerulonefrite). Da mesma forma, quando ocorre depleção linfóide (perda de elementos), o organismo se torna suscetível a infecções secundárias (estomatite crônica, gengivites, lesões de pele e formação de abscessos subcutâneos).



Atenção!

A interação entre produtos virais e componentes celulares da célula hospedeira pode resultar ou não em um efeito citopático em nível celular ou de hospedeiro.

Avançando na prática

Doença vesicular dos suínos

Para auxiliar o conteúdo das competências que foram atribuídas nesta seção, no parágrafo subsequente vamos apresentar uma nova situação de realidade profissional que se refere ao atendimento clínico. Nesta situação, aproximaremos os conteúdos teóricos com a prática proposta nesta seção de ensino. Leia com atenção o atendimento clínico realizado pelo médico veterinário.

Durante a visita técnica de rotina em uma granja suína, o médico veterinário observou algumas vesículas intactas e rompidas nos lábios e no focinho de dois suínos. Durante a anamnese, o proprietário relatou que os animais estavam em boas condições (se alimentando e ingerindo água), e que não havia observado as lesões. Em seguida, o médico veterinário realizou os procedimentos básicos de acordo com a legislação para casos de animais que apresentam lesões vesiculares. Notificou o Serviço Veterinário Oficial (§ 3º, art. 4º, Instrução Normativa nº 44, de 2 de outubro de 2007) e indicou a possibilidade da existência de um ou mais animais que apresentavam sinais clínicos compatíveis com doença vesicular infecciosa. Com base nos achados clínicos, o médico veterinário suspeitou da doença vesicular dos suínos.

Descrição da situação-problema

Em continuidade ao relato do caso, o teste ELISA evidenciou a presença do vírus

da doença vesicular do suíno, o qual pertence à família *Picornaviridae* e gênero *Enterovirus*. Mediante os conteúdos abordados nesta seção, responda a seguinte questão: Cite as possíveis interações que o agente viral pode desencadear durante o processo de infecção viral.



Lembre-se

A interpretação dos resultados de exames deverá ser realizada em conjunto com o histórico clínico gerado pelo profissional de campo.

Resolução da situação-problema

Durante o processo de infecção viral, o agente agressor desencadeará interações específicas com a célula hospedeira, dentre as quais pode-se citar: a formação de canais iônicos, atuação no processamento e transporte de RNA mensageiros, inibição da tradução do RNA mensageiro, inibição da síntese de DNA celular e, em alguns casos, estímulo da síntese de DNA para disponibilizar condições e componentes para a replicação viral.



Faça você mesmo

Pesquise e estude sobre a “Localização das infecções virais em nível de hospedeiro”. Utilize o material de apoio: Flores, E. F. **Virologia Veterinária**: virologia geral e doenças víricas. 2. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2012. 1008 p.

Faça valer a pena

1. A interação entre produtos virais e componentes celulares da célula hospedeira é complexa, o que pode resultar ou não em um efeito em nível _____ ou de _____.

Assinale a alternativa correta que completa a ordem das lacunas:

- a) Celular e citoplasma.
- b) Viroológico e hospedeiro.
- c) Celular e hospedeiro.
- d) Viroológico e celular.
- e) Citoplasma e núcleo.

2. A lise celular é um efeito visualmente _____.

Assinale a alternativa correta que completa a lacuna:

- a) Imperceptível.
- b) Perceptível.
- c) Subclínico.
- d) Retardatório.
- e) Imunológico.

3. O vírus herpes simples produz uma proteína denominada de ICP 27, a qual desencadeia um efeito inibitório sobre o transporte e processamento do _____.

Assinale a alternativa correta que completa as lacunas:

- a) RNA mensageiro.
- b) Ácido desoxirribonucleico.
- c) Anticorpo.
- d) Lipídeos.
- e) RNA ribossômico.

Referências

- ALMEIDA, M. S. et al. Visualização de Inclusão Viral em Hemácias – Relato de caso. In: **IX Jornada de ensino, pesquisa e extensão**, 2009. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2009.
- BERSANO, J. G.; VILLALOBOS, E. M. C.; BATLOUNI, S. R. **Pesquisa do vírus da peste suína clássica em suínos sadios abatidos em matadouros no estado de São Paulo**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 2001.p. 9-12, v. 68, n. 1.
- DE ALMEIDA, S. **Ciências Farmacêuticas – Micologia**. 1. ed., Rio de Janeiro: EGK, 2008.
- ENGELKIRK, P. G. B. **Microbiologia para as Ciências da Saúde**. 9. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2012.
- FLORES, E. F. **Virologia Veterinária: virologia geral e doenças víricas**. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2012. 1008 p.
- GREENE, C. **Doenças Infeciosas em Cães e Gatos**. 4. ed. São Paulo: Roca, 2015.
- HIRSH, D. C & ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. 1. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2003.
- JAPOLLA, G. et al. Teste imunocromatográfico de fluxo lateral: uma ferramenta rápida de diagnóstico. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.11, n.22, p.232, 2015.
- LYRA, T. M. P.; SILVA, J. A. **The foot-and-mouth disease in Brazil, 1960-2002**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 56, n. 5, p. 565-576, 2004.
- MEINERZ, A. R. M. et al. **Frequência do vírus da leucemia felina (FeLV) em felinos domésticos (Felis catus) semidomiciliados nos municípios de Pelotas e Rio Grande**. Ciência Animal Brasileira, Pelotas,v. 11, n. 1, p. 90-93, 2010.
- MADIGAN. Michael T. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160 p.
- PANDEY, ROBERT. **Microbiologia veterinária: perspectivas clínicas e moleculares**. 1. ed. São Paulo: Roca, 1994.
- PLAYFAIR, J.; CHAIN, B. M. **Imunologia básica: guia ilustrado de conceitos fundamentais**. In: Imunologia básica: guia ilustrado de conceitos fundamentais. São Paulo: Manole, 2013. p.112.

QUINN, P. F. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

SANTOS, N. S. **Virologia Humana**. 3. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2015.

The Center for Food Security & Public Health. Classical Swine Fever. Disponível em: <<http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease.php?name=classical-swine-fever&lang=en>>. Acesso em: 13 mar. 2016.

The Center for Food Security & Public Health. Disease Images: Foot and Mouth Disease. Disponível em: <<http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease-images.php?name=foot-and-mouth-disease&lang=en>>. Acesso em: 19 fev. 2016.

The Center for Food Security & Public Health. Enterovirus Encephalomyelitis. Disponível em: <<http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease.php?name=enterovirus-encephalomyelitis&lang=en>>. Acesso em: 13 abr. 2016.

VERMELHO, A. B. **Bacteriologia Geral**. 1. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2008.

Viral Zone. Disponível em: <<http://viralzone.expasy.org/>>. Acesso em: 25 fev. 2016.

Wikipédia: Enciclopédia livre. Vírus. Disponível em: <<https://pt.wikipedia.org/wiki/V%C3%ADrus>>. Acesso em: 19 fev. 2016.

YouTube. Replicação do vírus. Disponível em: <<https://youtu.be/ai-GtpXGP9Y?t=31>>. Acesso em: 12 mar. 2016.

ZAITS, C. **Compêndio de Micologia Médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2010.

Famílias virais de importância em medicina veterinária

Convite ao estudo

Olá, aluno! Seja bem-vindo à Unidade 2 de estudos deste livro didático!

Animais de companhia e de produção estão sujeitos a agentes virais que causam enfermidades e interferem no bem-estar do animal, provocando também perdas econômicas. Portanto, compreender os agentes virais é de fundamental importância para o médico veterinário na sociedade atual, pois estudando a patogenicidade viral, bem como suas vias de transmissão, é possível aplicar os conhecimentos na prevenção, controle e tratamento das doenças infecciosas.

Os agentes virais são agrupados em famílias, de acordo com as características estruturais, morfológicas, genéticas e biológicas que apresentam em comum. Hierarquicamente, os vírus são classificados em ordens (*viridae*), famílias e subfamílias (*virinae*), gênero (vírus) e espécie. Os conteúdos abordados nesta Unidade de Ensino permitirão a você, aluno, conhecer as famílias virais classificadas em I (RNA-vírus Família *Picornaviridae*, *Rhabdoviridae* e *Paramyxoviridae*), II (RNA-vírus Família *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Retroviridae* e *Coronaviridae*), III (DNA-vírus Família *Herpesviridae* e *Adenoviridae*, *Papovaviridae*, *Poxviridae* e *Parvoviridae*) e as principais doenças de importância na medicina veterinária cujos agentes estão classificados nas famílias virais.

Para auxiliá-lo no conteúdo abordado, vamos apresentar uma situação da realidade profissional no *Convite ao estudo*, trazendo um atendimento clínico realizado por um médico veterinário, com objetivo de aproximar os conteúdos teóricos com a prática proposta nesta unidade. Bons estudos!

Competência geral

Conhecer os principais microrganismos de interesse em medicina veterinária (bactérias, fungos e vírus), enfocando particularmente a taxonomia, características morfológicas, ecológicas, de sensibilidade, resistência e identificação laboratorial.

Competência técnica

Conhecer e compreender as particularidades dos vírus classificados nas diferentes famílias virais de importância clínica para a veterinária.

Objetivos

Dentre os objetivos desta unidade, o aluno deverá:

- Conhecer as principais famílias RNA vírus;
- Conhecer as principais famílias DNA vírus;
- Conhecer as principais doenças de importância na medicina veterinária, cujos agentes estão classificados nas famílias virais.

Como já falamos, a fim de auxiliar o estudo e a assimilação das competências que serão atribuídas nesta unidade, no parágrafo subsequente vamos apresentar uma situação da realidade profissional de um atendimento clínico realizado por um médico veterinário. Nesta situação, aproximaremos os conteúdos teóricos e a prática proposta nesta unidade. Leia com atenção o atendimento clínico realizado pelo profissional de veterinária.

Recentemente, um grupo de alunos visitou o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário. O laboratório recebe diferentes materiais biológicos para serem analisados. Durante os procedimentos de rotina, o técnico relata que a maioria das amostras que chegam no laboratório estão em condições adequadas (identificadas e armazenadas), porém, algumas amostras contêm quantidades insuficientes, o que pode comprometer determinados métodos laboratoriais. Desta forma, para as amostras com pouca quantidade de material biológico, o técnico deve estabelecer critérios para eleger o método mais adequado, a fim de prosseguir com a análise laboratorial. Em seguida, o técnico laboratorial explica que fatores como a eleição do material biológico a ser coletado no campo, seu acondicionamento em frascos adequados e o método de conservação adotado para o trânsito das amostras até a chegada no laboratório possuem grande relevância para obter bons resultados durante a análise laboratorial. Assim, cabe ao médico veterinário conhecer os

procedimentos adequados de acondicionamento e conservação de cada tipo de material biológico eleito para ser direcionado à análise laboratorial. De acordo com o técnico, o laboratório possui equipamentos para a detecção de agentes virais a partir métodos diretos (microscopia eletrônica, isolamento em cultivo celular, hemaglutinação, imunofluorescência, imunoperoxidase e reação da polimerase) e indiretos (ELISA – ensaio de imunoabsorção enzimática indireta, soroneutralização, fixação do complemento, inibição da hemaglutinação, imunofluorescência indireta). Mediante a prestação de serviços do laboratório, vamos acompanhar diferentes análises laboratoriais e seus respectivos casos clínicos.

Então, vamos começar os estudos?

Mãos à obra e boa sorte!

Seção 2.1

Classificação viral I

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos as estruturas biológicas e as famílias RNA-vírus *Picornaviridae*, *Rhabdoviridae* e *Paramyxoviridae*. Para melhor compreender o conteúdo abordado, vamos acrescentar informações na situação-problema referente ao relato de caso apresentado no *Convite ao estudo*, dessa forma, você participará indiretamente da resolução do caso.

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário recebeu amostras para identificação de um agente viral. O médico veterinário encaminhou um laudo técnico anexo às amostras, contendo informações detalhadas do atendimento clínico e a suspeita de um agente viral. De acordo com o laudo técnico, as amostras foram coletadas em uma granja de aves comerciais (galinhas poedeiras). Na anamnese, o proprietário relatou que algumas aves apresentavam sinais de fraqueza e redução na produção de ovos. Em seguida, o veterinário relata ter encontrado aves com a doença na forma mais grave, sendo que elas apresentavam sinais clínicos respiratórios, gastrointestinais e nervosos (paralisia das asas, das patas e espasmos musculares). Mediante as informações levantadas, o profissional de veterinária suspeitou de um agente viral, o qual estava acometendo as aves naquela propriedade. De acordo com o técnico laboratorial, as amostras recebidas continham material biológico de fezes, porções da traqueia, baço, pulmões e swabs traqueais e cloacais.

Mediante as informações apresentadas, e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às seguintes questões para a resolução do caso clínico:

- Qual é o agente patológico suspeito que está acometendo as galinhas poedeiras?
- Classifique o agente patológico em família, subfamília, gênero, espécie e sorotipo.
- O técnico laboratorial resolveu proceder com a técnica de isolamento em

cultivo celular. Pesquise e descreva a técnica de isolamento e identificação.

- Explique o ciclo replicativo da família viral em que se enquadra o agente patológico diagnosticado nas galinhas poedeiras.

Não pode faltar

Prezado aluno, a partir desta seção vamos começar a estudar as principais características das famílias RNA-vírus *Picornaviridae*, *Rhabdoviridae* e *Paramyxoviridae*.

Família *Picornaviridae*

A família *Picornaviridae* abrange uma ampla variedade de espécies virais, as quais são classificadas em nove gêneros (*Enterovirus*, *Cardiovirus*, *Rhinovirus*, *Hepatovirus*, *Erbovirus*, *Teschvirus*, *Aphtovirus* e *Parechovirus*). Os gêneros desta família são icosaédricos, ausentes de envelope e possuem RNA linear de polaridade positiva. Os picornavírus acometem várias espécies animais, como cavalos, suínos, bovinos, roedores e pássaros. Dentre os principais gêneros que abrangem esta família estão: vírus da febre aftosa (febra aftosa acomete animais da espécie bovina, ovina, caprina e suína), rinovírus equino (doença respiratória aguda que acomete equinos), o vírus da hepatite dos patos (acomete os patos domésticos), encefalomiocardite (miocardite e encefalite que acomete suínos e roedores), doença vesicular dos suínos (acomete os suínos) e enterovírus bovino (doença entérica e respiratória que acomete bovinos). Dentre os vírus da família *Picornaviridae* de maior interesse veterinário estão o vírus da febre aftosa, o vírus da encefalomiocardite dos camundongos, *Enterovirus* bovino e o agente da doença vesicular dos suínos. O vírus da febre aftosa acaba por destacar-se em função da grande repercussão sanitária e econômica, bem como os prejuízos causados pelas barreiras impostas pelo comércio internacional em animais e produtos cárneos oriundos de áreas endêmicas.



Refleta

A transmissão do vírus da febre aftosa é extremamente alta entre bovinos, ovinos, caprinos, suínos e outros animais biungulados. Sua transmissão pode ocorrer de forma direta, pelo contato de animais suscetíveis com animais infectados, ou pelo contato indireto, por meio de fômites ou subprodutos contaminados.

O diagnóstico da doença febre aftosa é realizado pela demonstração do vírus ou de antígenos virais presentes em tecidos ou fluidos de animais infectados.

Quadro 2.1 | Principais agentes virais da família *Picornaviridae*

Gênero	Espécie	Hospedeiro	Doença
<i>Aphthovirus</i>	Vírus da febre aftosa O	Bovinos, ovinos, caprinos e suínos	Febre aftosa
<i>Aphthovirus</i>	Vírus da rinite equina A	Equinos	Doença respiratória aguda
<i>Avihepatovirus</i>	Vírus da hepatite dos patos	Pato doméstico	Hepatite dos patos
<i>Cardiovirus</i>	Vírus da encefalomiocardite	Suínos, roedores	Miocardite, encefalite
<i>Enterovirus</i>	Vírus da doença Vesicular dos suínos	Suínos	Doença vesicular dos suínos
<i>Enterovirus</i>	Enterovírus bovino	Bovinos	Doença entérica e respiratória

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os vírions pertencentes à família *Picornaviridae* são ausentes de envelope, o seu genoma é constituído de RNA de fita simples e de polaridade positiva. Os agentes virais possuem formato icosaédrico e uma superfície composta por 60 unidades denominadas de protômeros, os quais são formados por quatro unidades de proteínas estruturais VP1, VP2, VP3 e VP4. A sequência de aminoácidos que constituem as proteínas estruturais é determinante para o tropismo e patogenia da partícula vírica, enquanto que as proteínas não-estruturais estão envolvidas na replicação do genoma e no processamento da poliproteína. O fato de seu RNA ser de polaridade positiva permite que a sua tradução se dê diretamente no ribossomo, por outro lado, o RNA mensageiro que não possui *cap* na extremidade 5', depende de ser reconhecido pelo sítio interno de entrada dos ribossomos (*internal ribosomal entry* – IRES). De modo geral, os vírions pertencentes à família *Picornaviridae* possuem resistência ao éter, clorofórmio e álcool, entretanto, quando submetidos a substâncias como formaldeídos, fenol e radiação iônica podem ter a partícula vírica inativada.



Exemplificando

As lesões vesiculares e histopatológicas da doença vesicular dos suínos são clinicamente indistinguíveis das causadas pelo vírus da febre aftosa, pelo vírus da estomatite vesicular e pelo vírus do exantema vesicular.

O diagnóstico do agente viral pode ser realizado utilizando diferentes métodos laboratoriais: Isolamento viral em células de cultivo, fixação do complemento e ELISA, para a detecção de antígenos ou anticorpos.

Ciclo replicativo

Os receptores presentes na superfície viral são determinantes pelo tropismo tecidual. Alguns agentes virais são internalizados por endocitose (vírus da febre aftosa) e, em outros casos, a penetração ocorre na membrana plasmática, sem que haja a internalização (poliovírus). Sugere-se que a proteína VP1 auxilia na formação de poros para que o genoma seja inserido na célula hospedeira (poliovírus). No caso dos vírus que utilizam o processo de internalização por endocitose, uma série de alterações no capsídeo da partícula vírica (desnudamento e liberação do genoma citoplasma) são desenvolvidas. A tradução e síntese do RNA genômico dos picornavírus ocorre no citoplasma das células hospedeiras, após liberação do RNA genômico no citoplasma, a IRES desenvolve uma estrutura secundária que permitirá a ligação dos RNAs mensageiros (independentes de *cap*) aos ribossomos, os quais serão direcionados para iniciar o processo de tradução. A replicação do RNA será realizada em duas etapas, com auxílio da polimerase RNA dependente de RNA, proteínas virais e celulares. Na fase inicial, o RNA será transcrito em moléculas de sentido negativo para serem utilizadas como molde para a replicação. Na fase final (montagem do capsídeo e maturação), os produtos decorrentes da clivagem pela polimerase RNA dependente de RNA serão organizados em uma estrutura de protômeros (proteínas VP0 (VP2 e VP4), VP1 e VP3). Em seguida, ocorrerá o egresso por lise celular.



Vocabulário

Epidemia: aumento significativo do número de casos de uma doença em uma determinada população, em um período de tempo.

Taxa de morbidade: frequência de doença causada por um determinado agente em relação à população de risco exposta.

Taxa de mortalidade: frequência de morte causada por um determinado agente em relação à população de risco exposta.

Fonte: Adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Família *Rhabdoviridae*

A família *Rhabdoviridae* (ordem *Mononegavirales*) é classificada em seis gêneros, sendo que apenas dois gêneros acometem plantas (*Cytorhabdovirus* e *Nucleorhabdovirus*) e os demais acometem animais e artrópodes (*Vesiculovirus*, *Lyssavirus*, *Ephemerovirus* e *Novirhabdovirus*). Entre as principais doenças causadas por agentes da família *Rhabdoviridae* estão a raiva e a estomatite vesicular. O vírus da raiva é uma doença preocupante para a saúde pública em função de ser uma zoonose, enquanto que o vírus da estomatite vesicular possui

uma grande repercussão econômica, pois acomete os animais de produção e equinos, apresentando sinais clínicos semelhantes aos da febre aftosa.

Quadro 2.2 | Principais agentes virais da família *Rhabdoviridae*

Gênero	Espécie	Hospedeiro	Doença
<i>Vesiculovirus</i>	Vírus da estomatite vesicular	Mamíferos, peixes, insetos	Estomatite vesicular, viremia primaveril das carpas
<i>Lyssavirus</i>	Vírus da raiva	Mamíferos, insetos	Raiva
<i>Ephemerovirus</i>	Vírus da febre efêmera dos bovinos	Mamíferos, insetos	Febre efêmera de bovinos
<i>Novirhabdovirus</i>	Vírus da necrose hematopoiética	Peixes	Necrose hematopoiética, septicemia hemorrágica

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os rbdovírus possuem estrutura no formato de bastão, e suas dimensões estão entre 100 e 430 nm de extensão por 40 a 100 nm de diâmetro. O genoma consiste em uma molécula de RNA de fita simples linear e de polaridade negativa, sendo recoberto por nucleocapsídeo (constituído de fosfoproteína e polimerase viral) e envelope (constituído de glicoproteína e lipídios derivados da célula hospedeira). No genoma, regiões denominadas de *leader* e *trailer* desempenham funções importantes na regulação da transcrição e replicação viral. A região *leader* é uma sequência pequena, não traduzida, na extremidade 3' e a região *trailer* encontra-se na extremidade 5'. A infectividade da partícula vírica é estável em condições ambientais (termolábeis), porém sensível à radiação solar e a ultravioleta, bem como a desinfetantes baseados em detergentes.

Ciclo replicativo

Vírus da estomatite vesicular

O ciclo replicativo inicia-se com a interação entre a glicoproteína G (presente no envelope) e os receptores de superfície da membrana da célula hospedeira. Após a adsorção, a penetração viral ocorre pelo mecanismo de endocitose. Com o auxílio da glicoproteína G, o envelope viral e a membrana endossomal se unem, formando um complexo ribonucleoproteína. Em seguida, sob condição de pH ácido, o genoma RNA de fita simples (sentido negativo) é liberado no citoplasma para que ocorra o processo de transcrição, com o auxílio da enzima RNA polimerase e a síntese das proteínas N, P, M, G e L. Nesse processo, a presença de proteínas do nucleocapsídeo (fosfoproteína – P e proteína L) e outros componentes são necessários para que se inicie a transcrição do genoma viral.

O processo de transcrição é determinado pela distância do promotor único localizado na extremidade 3' (processo denominado de atenuação da transcrição), o qual transcreve o genoma em proteínas na seguinte ordem: N, P, M, G e L. Cada RNA mensageiro possui uma estrutura cap na extremidade 5' e uma cauda poli-A na extremidade 3', sendo que o mesmo pode codificar apenas uma proteína. Quando a sequência 5'-AGUUUUUUUCAUA-3' é completada no final da proteína N, sinaliza o fim do processo de transcrição. Após a tradução de proteínas virais, a qual está associada ao processo de transcrição, a RNA polimerase passa para o processo de replicação viral, no qual ocorre a síntese de cadeias completas de RNA no sentido positivo, e que serão utilizadas como moldes para síntese de RNA no sentido genômico. Os RNAs de sentido genômico serão encapsidados pela interação entre a proteína N e a proteína M. O complexo RNP interage com os trimeros (glicoproteína G produzida no complexo de Golgi e inserida na membrana plasmática) na membrana plasmática, adquirindo envelope lipoproteico por meio de brotamento e liberação para o meio extracelular.



Pesquise mais

Conheça a doença infecciosa "Raiva", causada pelo vírus pertencente à família *Rhabdoviridae*. Acesse o link. Disponível em: <[https://pt.wikipedia.org/wiki/Raiva_\(doen%C3%A7a\)](https://pt.wikipedia.org/wiki/Raiva_(doen%C3%A7a))>. Acesso em: 10 maio 2016.

Família *Paramyxoviridae*

A família *Paramyxoviridae* pertence à ordem *Mononegavirales*, que inclui as subfamílias *Paramyxovirinae* e *Pneumovirinae*. A subfamília *Paramyxovirinae* possui seis gêneros (*Respirovirus*, *Morbillivirus*, *Rubulavirus*, *Henipavirus*, *Avulavirus* e *Vírus TPMV-like*), enquanto que a subfamília *Pneumovirinae* possui dois gêneros: *Pneumovirus* e *Metapneumovirus*. Dentre os principais agentes virais pertencentes à família *Paramyxoviridae* estão: o vírus respiratório sincicial bovino; o vírus da parainfluenza bovino tipo 3; o vírus da cinomose canina; o vírus da peste bovina; o vírus da doença de Newcastle. Os vírus pertencentes a esta família são citolíticos, os quais causam efeitos citopáticos, como fusão entre células, inclusões intranucleares acidofílicas e alguns possuem propriedade de hemadsorção. Eles são envelopados e o genoma é constituído de RNA de fita simples e de sentido negativo. São sensíveis ao ambiente ácido, aos solventes líquidos, aos detergentes não-iônicos e aos formaldeídos. O processo de congelamento e descongelamento, e a exposição por 30 minutos em temperatura de 56°C, podem comprometer a infectividade da partícula vírica.



Assimile

Após instalação do vírus da cinomose canina, inicialmente, o agente viral é disseminado pelos órgãos linfóides seguido de pico febril (viremia primária). Quando o organismo não desenvolve uma resposta imune adequada, o vírus passa a ser disseminado para a pele, trato digestivo, respiratório e sistema nervoso (viremia secundária).

Quadro 2.3 | Principais agentes virais da família *Paramyxoviridae*

Subfamília	Gênero	Espécie	Hospedeiro	Doença
Paramyxovirinae	<i>Respirovirus</i>	Vírus da parainfluenza bovina 3	Bovinos Ovinos	Doença respiratória subclínica ou branda, associada à febre do transporte em bovinos.
		Vírus Sendai	Camundongos Suínos, ratos, hamsters e cobaias.	Patógeno respiratório (pneumonia em ratos).
		Vírus da parainfluenza humana 1 e 3	Humanos, outros primatas, hamsters, cobaias, furões, ratos cauda de algodão.	Infecções no trato respiratório superior (tosse, dispneia, rouquidão, febre).
	<i>Morbillivirus</i>	Vírus da cinomose	Caninos, leões, furões, guaxinins, pandas.	Doença aguda, envolvimento multissistêmico e mortalidade variável.
		Vírus da peste bovina	Bovinos, ovinos, caprinos e suínos.	Doença altamente contagiosa, altas taxas de morbidade e mortalidade.
		Vírus da peste dos pequenos ruminantes	Ovinos, caprinos, alguns ruminantes selvagens.	Doença grave, semelhante à peste bovina, altas taxas de morbidade e mortalidade.
	<i>Rubulavirus</i>	Vírus da parainfluenza canina 2	Cães	Doença branda ou inaparente em cães; associada à tosse dos canis.
		<i>Rubulavirus</i> suíno	Suínos	Doença do olho azul descrita no México.
	<i>Henipavirus</i>	Vírus Hendra	Morcegos, equinos, humanos.	Zoonose emergente que acomete e equinos. Causa gripe e doença neurológica. Apresentam febre e encefalite aguda.
		Vírus Nipah	Morcegos, suínos, humanos, caninos e felinos.	Zoonose emergente que acomete os suínos. Causa gripe e doença neurológica. Apresentam febre e encefalite aguda.
<i>Avulavirus</i>	Vírus da doença de Newcastle ou paramixovírus aviário 1	Galinhas, patos, gansos, perus, aves silvestres e aquáticas, humanos.	A virulência é variável: velogênicas, mesogênicas e lentigênicas. Infecção generalizada, sinais respiratórios, gastrointestinais e nervosos.	

(continua)

Paramyxovirinae	<i>Pneumovirus</i>	Vírus respiratório sincicial bovino	Bovinos e ovinos.	Acomete o trato respiratório superior, podendo progredir para o trato inferior (bronquiolite e pneumonia).
		Vírus respiratório sincicial ovino	Ovinos e bovinos.	Acomete o trato respiratório superior, podendo progredir para o trato inferior (bronquiolite e pneumonia).
	<i>Metapneumovirus</i>	Vírus da rinitraqueite dos perus ou pneumovírus aviário	Galinhas e perus.	Síndrome da cara inchada dos perus; Síndrome da cabeça inchada dos frangos.

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura do vírion e do genoma

Os vírus possuem formato esférico ou pleomórficos, são envelopados e possuem diâmetro variando entre 150 e 300 nm. Alguns vírus podem apresentar formato filamentosos, os quais apresentam comprimento entre 1000 a 10000 nm. As glicoproteínas H, HN e G estão presentes na superfície do envelope, as quais auxiliam no processo de fusão entre envelope e membrana celular. O nucleocapsídeo é constituído pelo genoma RNA e proteína N, P e L. O espaço entre nucleocapsídeo e envelope é constituído pela proteína M. As glicoproteínas H, HN e G, presentes no envelope, são responsáveis pela etapa de adsorção, sendo que cada uma possui uma função específica. A glicoproteína H possui atividade hemaglutinante (H), a glicoproteína NH possui atividade hemaglutinante (H) e neuraminidase (N), e a glicoproteína G auxilia na ligação dos receptores, quando não houver as glicoproteínas HN e H. A glicoproteína de fusão (F) possui a função de fusão entre envelope e membrana celular. A proteína M é essencial durante o processo de morfogênese viral, interagindo com as glicoproteínas H, HN ou G com o nucleotídeo, desencadeando o brotamento. A proteína N confere proteção ao genoma contra enzimas nucleases, e auxilia na morfogênese de novas partículas virais. A proteína L auxilia no processo de polimerização do RNA, enquanto que as proteínas P e N estão envolvidas no processo de síntese de RNA mensageiro (transcrição), para auxiliar na síntese do RNA genômico a partir de RNA antígenômico.



Assimile

O vírus da doença de Newcastle apresenta três tipos na forma lentogênica (infecção subclínica ou sinais respiratórios moderados); mesogênica (sinais respiratórios e ocasionalmente neurológicos), e velogênica (neurotrópica: sinais respiratórios e neurológicos e viscerotrópica (lesões hemorrágicas no intestino)).

Ciclo replicativo

No processo infeccioso dos agentes virais pertencentes à família *Paramyxoviridae*, as partículas víricas se ligam em receptores específicos (glicosaminoglicanos, ácido siálico, etc.) e penetram na célula hospedeira, utilizando o mecanismo de fusão. No citoplasma, o nucleocapsídeo será transcrito com auxílio da RNA polimerase e proteínas P e L, sendo que este processo inicia-se a partir da extremidade 3'. Nos vírus não-segmentados, o genoma possui indicação de início e término da transcrição, neste caso, os RNAs mensageiros possuem a estrutura cap 5' na extremidade e são poliadenilados (poli-A), os quais são traduzidos em proteínas no ribossomo. A continuidade ou o término do processo de transcrição tem seu controle a partir do acúmulo de proteínas virais no citoplasma. As proteínas P e N auxiliam na transcrição integral do genoma e síntese de uma cópia de RNA antígenômico (sentido positivo), a qual servirá de molde para a síntese do RNA genômico (sentido negativo). Sintetizado o RNA genômico, este se associará com a proteína N, formando o nucleocapsídeo (RNA+N). Em seguida, outras proteínas P e L se associam ao nucleocapsídeo, tal evento é considerado como a fase inicial da morfogênese. Outros componentes, como as glicoproteínas NH e F (sintetizadas no retículo endoplasmático e modificadas no complexo de Golgi) são fixadas na membrana plasmática. Além desses, um evento importante é a clivagem da proteína F0 em F1 e F2, com auxílio de proteases, as quais são essenciais para a infectividade da partícula vírica. Por fim, o nucleocapsídeo interage com auxílio da proteína N e M, resultando no processo de brotamento na membrana plasmática e egresso da partícula vírica para o meio extracelular.



Faça você mesmo

Pesquise e estude sobre o *Complexo das doenças respiratórias de bezerros*. Acesse o link. Disponível em: <www.ivis.org/proceedings/abmg/2005/pdf08.pdf?LA=7>. Acesso em: 10 maio 2016.

Sem medo de errar

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os pontos que foram analisados anteriormente da situação da realidade profissional.

Durante a visita técnica de um grupo de alunos no laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário, os mesmos observaram que o laboratório possui uma ampla gama de equipamentos, o que permite a execução de diferentes análises laboratoriais. O laboratório tem como objetivo prestar serviços aos profissionais da área de Veterinária, a fim de identificar agentes patológicos, utilizando diferentes métodos de diagnósticos para auxiliar na resolução de casos clínicos.

Mediante as informações apresentadas na situação e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Qual é o agente patológico suspeito que está acometendo as galinhas poedeiras?

O médico veterinário suspeitou de uma agente viral, pertencente à família *Paramyxoviridae*, denominado de vírus da doença de Newcastle ou paramixovírus aviário tipo 1.

- Classifique o agente patológico em ordem, família, subfamília, gênero, espécie e sorotipo.

O vírus de Newcastle é de ordem: *Mononegavirales*; família: *Paramyxoviridae*; gênero: *Avulavirus*; espécie: paramixovírus aviário ou vírus da doença de Newcastle e sorotipo: 1.

- Explique o ciclo replicativo da família viral em que se enquadra o agente patológico diagnosticado nas galinhas poedeiras.

No processo infeccioso dos agentes virais pertencentes à família *Paramyxoviridae*, as partículas víricas se ligam em receptores específicos, que permitem que elas entrem na célula hospedeira mediante o mecanismo de fusão. No interior da célula hospedeira (citoplasma), o nucleocapsídeo será transcrito com auxílio da RNA polimerase, e outras proteínas P e L. A continuidade ou o término do processo de transcrição tem controle a partir do acúmulo de proteínas virais no citoplasma. As proteínas P e N auxiliam na transcrição integral do genoma e síntese de uma cópia de RNA antígenômico (sentido positivo), a qual servirá de molde para síntese do RNA genômico (sentido negativo). Sintetizado o RNA genômico, este se associará com a proteína N, formando o nucleocapsídeo (RNA+N). Em seguida, outras proteínas P e L se associam ao nucleocapsídeo, tal evento é considerado como a fase inicial da morfogênese. Outros componentes, como as glicoproteínas NH e F (sintetizadas no retículo endoplasmático e modificadas no complexo de Golgi) são fixadas na membrana plasmática. Além desses, um evento importante é a clivagem da proteína F0 em F1 e F2, com auxílio de proteases, as quais são essenciais para a infectividade da partícula vírica. Por fim, o nucleocapsídeo interage com auxílio da proteína N e M, resultando no processo de brotamento na membrana plasmática e egresso da partícula vírica para o meio extracelular.

Avançando na prática

Doença Vesicular Suína

Descrição da situação-problema

Recentemente, o médico veterinário de uma cooperativa foi solicitado para fazer uma visita técnica em uma propriedade rural, pertencente a um dos cooperados. O proprietário relatou que alguns suínos apresentavam apatia e claudicação, porém, em algumas semanas, os sintomas e as lesões desapareceram, e os animais permaneceram em boas condições. Durante o exame clínico de alguns suínos, o veterinário observou lesões vesiculares no focinho, nos lábios e nas bandas coronárias de uma das patas do membro posterior. Em seguida, o profissional coletou amostras das lesões vesiculares (focinho, lábios e nas bandas coronárias da pata) e identificou e acondicionou em recipientes adequados para serem encaminhadas ao laboratório de análises clínicas. Mediante os sinais clínicos, o veterinário suspeitou de um agente viral pertencente à família *Picornaviridae*. Suspeitando de uma doença vesicular infecciosa, ele realizou os procedimentos básicos de acordo com a legislação para casos de animais que apresentam lesões vesiculares, notificando o Serviço Veterinário Oficial (§ 3º, art. 4º, Instrução Normativa nº 44, de 2 de outubro de 2007) e indicando a possibilidade da existência de um ou mais animais que apresentavam sinais clínicos compatíveis com doença vesicular infecciosa.

Mediante as informações apresentadas, e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Quais os possíveis agentes patológicos, pertencentes à família *Picornaviridae*, que podem estar acometendo os suínos naquela propriedade rural?
- Explique o ciclo replicativo dos agentes pertencentes à família *Picornaviridae*.



Lembre-se

As partículas víricas pertencentes à família *Picornaviridae* são vírus envelopados, e seu genoma é constituído por um genoma contendo RNA de fita simples e de polaridade positiva.

Resolução da situação-problema

Em continuidade com o relato de caso, como se suspeitava de uma doença vesicular infecciosa, foram realizados testes de diagnósticos para identificar possíveis agentes virais que causam doenças com sinais clínicos semelhantes (febre aftosa, estomatite vesicular, exantema vesicular e doença vesicular dos suínos). Os exames evidenciaram resultado negativo para o vírus da febre aftosa, estomatite vesicular e exantema vesicular, no entanto, foi positivo para o vírus da doença vesicular dos suínos. O vírus da doença vesicular dos suínos pertence à família *Picornaviridae* e seu gênero é o *Enterovirus*. Agora, para melhor compreender o agente viral, vamos responder as questões do caso clínico.

- Quais os possíveis agentes patológicos, pertencentes à família *Picornaviridae*, que podem estar acometendo os suínos naquela propriedade rural?

Vírus da febre aftosa (família: *Picornaviridae*, gênero *Aphthovirus*). Vírus da estomatite vesicular (família *Rbadoviridae*, gênero *Vesiculovirus*). Vírus da doença vesicular dos suínos (família *Picornaviridae*, gênero *Enterovirus*).

- Explique o ciclo replicativo dos picornavírus.

No processo de adsorção, os receptores presentes na superfície viral são determinantes pelo tropismo tecidual. O mecanismo de penetração pode ser específico do grupo viral, ou individual de cada partícula vírica. Alguns agentes virais são internalizados por endocitose (vírus da febre aftosa) e, em outros casos, a penetração ocorre na membrana plasmática, sem que haja a internalização (poliovírus). Sugere-se que a proteína VP1, presente nos poliovírus, forma poros para que o genoma seja inserido na célula hospedeira. No caso dos vírus que utilizam o processo de internalização por endocitose, uma série de alterações no capsídeo da partícula vírica (desnudamento e liberação do genoma citoplasma) são desenvolvidas. Na fase de expressão gênica, a tradução e síntese do RNA genômico dos picornavírus ocorre no citoplasma das células hospedeiras, mediante um complexo de fatores virais e celulares. Após liberação do RNA genômico no citoplasma, os sítios IRES desenvolvem uma estrutura secundária que permitirá a ligação dos RNAs mensageiros (independente de cap) aos ribossomos, os quais serão direcionados para o processo de tradução. A replicação do RNA será realizada em duas etapas, com auxílio da polimerase RNA dependente de RNA, e com auxílio das proteínas virais e celulares. Na fase inicial, o RNA será transcrito em moléculas de sentido negativo, para serem utilizadas como molde para a replicação. Na fase final, os produtos decorrentes da clivagem pela polimerase RNA dependente de RNA serão organizados em uma estrutura protômera (proteínas VP0, VP1 e VP3). Em seguida, a cada cinco protômeros, forma-se pentâmeros e a cada doze pentâmeros origina-se o capsídeo.



Faça você mesmo

Pesquise mais sobre as principais doenças e seus sinais clínicos da família: *Picornaviridae*, *Rbadoviridae* e *Paramyxoviridae*. Utilize o material de apoio: QUINN, P. J. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: EGK, 2003.

Faça valer a pena

1. Na família *Picornaviridae*, o gênero *Aphthovirus* se destaca entre os demais por sua importância econômica e sanitária, já que é o causador da doença conhecida como febre aftosa. Com base nesta afirmação, indique os possíveis hospedeiros do vírus da febre aftosa.

Assinale a alternativa correta:

- a) Bovinos, suínos, galinhas poedeiras e humanos.
- b) Ovinos, bovinos, caprinos e suínos.
- c) Bovinos, patos, suínos e caprinos.
- d) Ovinos, roedores, bovinos e suínos.
- e) Bovinos, frangos de corte, caprinos e suínos.

2. Os picornavírus são capazes de infectar diferentes espécies animais, como: cavalos, suínos, bovinos, roedores e pássaros. Os vírions pertencentes à família *Picornaviridae* são vírus _____ de fita _____, de polaridade _____ e _____ envelope.

Assinale a alternativa que completa a ordem das lacunas.

- a) RNA, fita dupla, negativa, com.
- b) DNA, fita dupla, negativa, com.
- c) DNA, fita simples, positiva, sem.
- d) RNA, fita simples, positiva, sem.
- e) RNA, fita linear, positiva, sem.

3. No ciclo reprodutivo dos picornavírus, a interação da partícula vírica com os receptores da célula hospedeira é o primeiro passo no processo de replicação. Em qual estrutura das células hospedeiras acontece a tradução e síntese do RNA genômico da família *Picornaviridae*?

Assinale a alternativa correta:

- a) Mitocôndrias.
- b) Núcleo celular.
- c) Envoltório nuclear.
- d) Citoplasma.
- e) Inclusões citoplasmáticas.

Seção 2.2

Classificação viral II

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos as estruturas biológicas, o ciclo replicativo e conheceremos as principais doenças causadas pelos agentes pertencentes às famílias: *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Retroviridae* e *Coronaviridae*. Para auxiliar o conteúdo abordado, vamos acrescentar novas informações na situação-problema apresentada no *Convite ao estudo*, dessa forma, você participará indiretamente da resolução caso.

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário recebeu amostras para diagnóstico laboratorial. O médico veterinário encaminhou um laudo técnico anexo às amostras, contendo informações detalhadas do atendimento clínico e indicando a suspeita de um agente viral. De acordo com o laudo técnico, as amostras foram coletadas de um gato com aproximadamente 2 anos de idade. Na anamnese, o proprietário relatou que o animal já tinha sido hospitalizado em outra clínica (2 atendimentos), pois apresentava anorexia, perda de peso e desidratação, porém não obteve resolução do caso. Desta forma, o proprietário procurou outra clínica, já que o gato voltou a apresentar sintomas semelhantes, no entanto, o animal não resistiu e ocorreu o óbito. Em seguida, o veterinário solicitou autorização para fazer a autópsia do animal e coletar amostras para proceder com o diagnóstico final. Com base nas informações levantadas, ele suspeitou de um agente viral, o qual estava acometendo o animal. De acordo com o técnico laboratorial, as amostras recebidas continham material biológico de líquido da cavidade abdominal e torácica (exsudato fibrinoso), fezes, porções da traqueia, baço, fígado e pulmões. Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Qual o possível agente patológico suspeito que acometeu o gato?
- Classifique o agente patológico em família, subfamília, gênero, espécie e sorotipo.

- Descreva a estrutura viral dos vírus pertencentes à família do agente viral que acometeu o gato.

Não pode faltar

Nesta seção, abordaremos os métodos diretos de diagnóstico, envolvendo a detecção de antígenos e ácidos nucleicos dos agentes virais. Vamos iniciar os estudos!

Família *Togaviridae*

A família *Togaviridae* contém aproximadamente trinta espécies virais distribuídas em dois gêneros denominados de *Alfavirus* e *Rubivirus*. Diversas doenças em animais domésticos (aves e equinos) e silvestres (aves e mamíferos) têm sido associadas aos agentes virais pertencentes à família *Togaviridae*. Os agentes virais pertencentes ao gênero *Alfavirus* abrigam vários patógenos que acometem humanos e animais, os quais são transmitidos, principalmente, por vetores artrópodes, já o gênero *Rubivirus* contém apenas o vírus da rubéola, que acomete os seres humanos. Dentre os agentes virais de interesse veterinário estão os vírus da encefalite equina do Leste, do Oeste e venezuelana, entre outros de importância regional.

Quadro 2.4 | Principais agentes virais pertencentes à família *Togaviridae* de gênero *Alfavirus*

Gênero	Vírus	Hospedeiros naturais	Espécies animais	Doença	Vetores	Localização
<i>Alfavirus</i>	Encefalite equina do Leste	Aves silvestres de áreas pantanosas	Equinos, aves domésticas (faisões, galinha, emas, patos)	Doença febril, encefalite	Mosquitos (<i>Culiseta melanura</i> , <i>Aedes sollicitans</i> , <i>A. vexans</i>)	EUA, América Central e Caribe, costa norte da América do Sul
	Encefalite equina do Oeste	Aves silvestres, Pequenos mamíferos	Equinos	Encefalite, doença febril	Mosquito (<i>Culex tarsalis</i>)	Planícies centrais e ocidentais dos EUA e Canadá
	Encefalite equina venezuelana	Roedores silvestres, equinos (vírus epizooticos)	Equídeos (equinos, asininos, burros)	Encefalite, doença febril	Mosquito (<i>Culex sp.</i>)	América Central, norte/noroeste da América do Sul
	Higlands J	Pássaros, mamíferos	Equinos	Doença febril, encefalite	Mosquitos	Américas
	Chikungunya	Primatas	Primatas e humanos	Doença febril, exantema, artralgias	Mosquitos	África, Índia, Sudeste Asiático
	Semliki Forest	Pássaros	Pássaros, humanos e equinos	Doença febril, rara encefalite	Mosquitos	África
	Getah	Pássaros, mamíferos	Equinos	Doença febril	Mosquitos	Sudeste Asiático

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os agentes virais pertencentes à família *Togaviridae* são envelopados, de conformidade esférica ou pleomórficos, diâmetro de 70 nm, nucleocapsídeo com 40 nm de diâmetro, constituído por 240 cópias da proteína capsídeo com simetria icosaédrica. O seu genoma é constituído por uma molécula de RNA de fita simples, linear e de polaridade positiva. Na organização estrutural do genoma, a extremidade 5' possui uma estrutura cap e a extremidade 3' é *poliadenilada*. Sequências não-traduzidas são encontradas nas extremidades do genoma, as quais são utilizadas para a sua transcrição e replicação.



Assimile

O genoma das famílias *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Retroviridae* e *Coronaviridae* são constituídos pelo ácido ribonucleico.

Ciclo replicativo

Os vírus classificados no género *Alfavirus* utilizam diferentes receptores para iniciar o processo de infecção, de acordo com o agente viral. A penetração ocorre com auxílio de receptores (E2 e/ou E1), seguida de internalização das partículas víricas, o que ocorre por endocitose. A fusão do envelope viral com a membrana dos endossomos ocorre sob pH baixo (5 a 6), o que justifica a classificação dos vírus como pH-dependentes. Outros mecanismos são descritos na literatura como a formação de poros com auxílio da proteína E1, permitindo a ejeção do genoma diretamente no citoplasma, sem a penetração do nucleocapsídeo. Para isto, alterações conformacionais são aplicadas na E1 sob condições de pH baixo, porém, a penetração do genoma ocorreria em pH próximo a neutro. Quando há penetração por endocitose, o desnudamento ocorre pela interação entre as proteínas do nucleocapsídeo e os ribossomos presentes na célula hospedeira. No caso da penetração por meio dos poros, o genoma já estaria desprovido do nucleocapsídeo. Após desnudamento, a tradução do RNA genômico ocorrerá diretamente no ribossomo. Nesse processo, ocorrerá a síntese de proteínas não-estruturais (nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4). A formação de um complexo entre a nsP4 e demais nsPs é responsável pela formação de uma molécula de RNA antígenômico (polaridade negativa), a qual servirá de molde para síntese de RNA subgenômico. O RNA subgenômico dará origem às proteínas estruturais do capsídeo e às glicoproteínas do envelope E1, E2 e E3, as quais passarão por transformações (glicosilação, acilação) no aparelho de Golgi. O RNA antígenômico servirá de molde para síntese do RNA genômico. Em seguida, a montagem do nucleocapsídeo ocorre associada à membrana do citoplasma (RNA genômico + proteína C). Na membrana plasmática, ocorre interação com as caudas das glicoproteínas recém-inseridas para completar a maturação e brotamento da partícula vírica.

Família *Flaviviridae*

A família *Flaviviridae* abriga várias espécies virais que estão distribuídas em três gêneros: *Flavivirus*, *Pestivirus* e *Hepacivirus*, os quais são de importância humana e veterinária. Os agentes virais (vírus da febre amarela, vírus do oeste do Nilo, vírus da encefalite japonesa, vírus da doença de Wesselsbron, vírus da encefalomielite ovina “mal-do-pulo” e Vírus meningo-encefalite dos perus de Israel) pertencentes ao gênero *Flavivirus* são transmitidos por insetos, os quais são considerados zoonóticos de importância em sanidade animal. No gênero *Pestivirus* estão o vírus da peste suína clássica, o vírus da diarreia viral bovina e o vírus da doença da fronteira e, por fim, no gênero do *Hepacivirus* encontra-se apenas o vírus da hepatite C, que acomete exclusivamente os seres humanos.

Quadro 2.5 | Principais agentes virais pertencentes à família *Flaviviridae*.

Gênero	Vírus	Hospedeiros naturais	Espécies animais	Doença	Localização
<i>Flavivirus</i>	Febre amarela	Mosquitos	Humanos	Febre, calafrios, cansaço, dor de cabeça, dor muscular	África, América do Sul e Central
	Vírus da doença de Wesselsbron	Mosquitos	Ovinos, humanos, bovinos, caprinos, suínos, equinos mulas, coelhos, cães e aves silvestres.	Abortos, hepatite, hemorragias, malformações congênitas	África
	Vírus do oeste do Nilo	Mosquitos	Pássaros, humanos, equinos e aves.	Encefalite, doença febril	África, Europa, EUA, México, América Central
	Vírus da encefalite japonesa	Mosquitos	Aves aquáticas, equinos e suínos	Encefalite (nascimento de leitões fracos) aborto e mortalidade neonatal	Ásia
	Vírus da encefalomielite ovina (mal-do-pulo)	Carrapatos (<i>Ixodes ricinus</i>)	Ovinos, humanos, bovinos, suínos, equinos e cervídeos.	Encefalite	Escócia, Irlanda do Norte
	Vírus meningo-encefalite dos perus de Israel	Mosquitos	Perus	Encefalite	Israel e África do Sul.
<i>Pestivirus</i>	Vírus da diarreia bovina tipo 1 e 2	-	Bovinos, ovinos e suínos.	Infecção inaparente, diarreia bovina	Ocorrência mundial
	Vírus da doença da fronteira	-	Ovinos	Aborto e anormalidades congênitas	Ocorrência mundial
	Vírus da peste suína clássica	-	Suínos	Alta mortalidade, infecção generalizada, sinais nervosos, aborto	América do norte, Austrália, Países Europeus

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os agentes virais pertencentes à família *Flaviviridae* são esféricos (40-60 nm de diâmetro), envelopados (com duas ou três proteínas virais inseridas) e possuem o nucleocapsídeo icosaédrico. O genoma consiste em uma molécula de RNA de fita simples e de polaridade positiva e a molécula de RNA apresenta duas regiões não-traduzidas nas extremidades 5' e 3'. Neste processo não ocorre a síntese de RNAs subgenômicos. As proteínas estruturais são codificadas próximo à extremidade 5' e as proteínas não-estruturais são codificadas próximo à extremidade 3'.



Refleta

Para assegurar a inexistência de possíveis agentes patogênicos em uma determinada área, propriedade ou instalação, deve-se proceder um período de vazio sanitário, no qual não poderá haver animais!

Ciclo replicativo

No processo inicial de adsorção ocorre a interação entre as proteínas do envelope viral e as proteínas da membrana plasmática da célula hospedeira. Em seguida, inicia-se o processo de penetração, o qual ocorre pelo mecanismo de endocitose. Em fases subsequentes ocorrerá a fusão entre o envelope e a membrana endossomal, sob um meio de pH ácido, o que auxiliará a dissociação entre o capsídeo e o genoma, que é liberado no citoplasma. O RNA genômico de polaridade positiva será traduzido diretamente no ribossomo, dando origem a uma proteína que será clivada em outras proteínas, as quais darão origem às proteínas estruturais e não-estruturais. As proteínas não-estruturais auxiliarão na clivagem de proteínas que atuarão na replicação do genoma. No processo de replicação, será sintetizada uma molécula de RNA de sentido antígenômico, de polaridade negativa. Esta molécula servirá de molde para a síntese de RNAs de polaridade positiva, que serão utilizados para novas etapas de tradução ou, em seguida, serão encapsidados (etapa denominada de morfogênese). A morfogênese ocorrerá na região perinuclear do citoplasma, em conjunto com as membranas do complexo de Golgi e do retículo endoplasmático. Em seguida, as partículas são lançadas no citoplasma na forma de vacúolos. A liberação da partícula vírica varia conforme o vírus e a célula hospedeira, a qual pode não comprometer sua integridade (a liberação ocorre na forma não-citopática ou até a lise e destruição da célula).

Família *Retroviridae*

Os agentes virais pertencentes à família *Retroviridae* estão inclusos em duas subfamílias: *Orthoretrovirinae* (gêneros: *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gamaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, *Epsilonretrovirus* e *Lentivirus*) e *Spumaretrovirinae*

(gênero: *Spumavirus*). Os principais agentes virais de importância veterinária estão classificados nas subfamílias *Orthoretrovirinae* e *Spumaretrovirinae*.

Quadro 2.6 | Principais agentes virais pertencentes à família *Retroviridae*.

Subfamília	Gênero	Vírus	Espécies animais	Doença
Orthoretrovirinae	<i>Alpharetrovirus</i>	Vírus da Leucose aviária	Frangos, faisões, perdizes e codornas	As aves com barbela pálida, fracas, magras e bursa de Fabricius aumentada.
	<i>Betaretrovirus</i>	Retrovírus ovino Jaagsiekte	Ovinos	Doença pulmonar neoplásica.
	<i>Gammaretrovirus</i>	Vírus da leucemia felina	Gatos	Doença crônica, imunossupressão, enterite e neoplasia.
	<i>Deltaretrovirus</i>	Vírus da Leucose bovina	Bovinos	Desenvolve linfossarcoma.
	<i>Lentivirus</i>	Vírus da imunodeficiência bovina	Bovinos	Ampla distribuição, patogenicidade incerta.
		Vírus da anemia infecciosa equina	Equinos	Episódios febris recorrentes.
		Vírus da imunodeficiência felina	Gatos	Infecção duradora, viremia persistente.
		Vírus da artrite-encefalite caprina	Caprinos	Infecção duradora, associado à poliartrite e mastite
		Vírus Maedi/Visna dos ovinos	Ovinos	Doença respiratória progressiva, doença neurológica progressiva.

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os retrovírus são esféricos, possuem diâmetro que varia entre 80 e 120 nm, possuem duas moléculas de RNA de fita simples (denominadas de diploides), as quais são de polaridade negativa. São os únicos vírus, que acometem animais, com duas moléculas de RNA. O núcleo (core) é formado pelo genoma e proteínas (proteases e integrases). O nucleocapsídeo (core + capsídeo) é recoberto por uma camada formada a partir de cópias da proteína matriz, sendo que a proteína matriz é revestida por um envelope lipoproteico, contendo duas glicoproteínas virais (transmembrana e de superfície). O genoma RNA possui três genes principais (*gag*, *pol* e *env*) que auxiliam na codificação de proteínas, enzimas e proteínas do envelope.



Assimile

A **transmissão horizontal** de agentes patogênicos é proporcionada pelo contato entre indivíduos decorrente do contato e convivência entre os animais.

A **transmissão iatrogênica** de agentes patogênicos ocorre durante procedimentos médicos.

A **transmissão vertical** de agentes patogênicos ocorre dos progenitores (pais) para a progênie (filhos).

Ciclo replicativo

O processo inicial de adsorção é mediado por receptores específicos de cada agente viral pertencente à família *Retroviridae*. As células-alvo infectam, principalmente, as células do sistema imunológico (monócitos, macrófagos e/ou linfócitos). O processo de fusão do envelope viral com a membrana plasmática é auxiliado por proteína transmembrana, que não é dependente da redução do pH, e tal situação ocorre na superfície da célula. Após penetração, o genoma é liberado no citoplasma (processo denominado de desnudamento) para que seja sintetizado o DNA provírus (mecanismo denominado de transcrição reversa). Sintetizado o DNA provírus (fita dupla), o mesmo se desloca até o interior do núcleo, onde é inserido no cromossomo celular com auxílio da enzima integrase. Nesta etapa, ocorre a incorporação definitiva de uma cópia do genoma viral no cromossomo do hospedeiro (etapa essencial para prosseguir com a replicação viral). Após integração, o DNA provírus é transcrito em RNAs mensageiros (RNA mensageiro subgenômico e RNA mensageiro com extensão total do genoma), com auxílio da enzima RNA polimerase II e fatores de transcrição celular. Os RNAs subgenômicos são exportados para o citoplasma para serem traduzidos em proteínas do envelope, enquanto que os RNAs mensageiros de extensão total do genoma serão traduzidos em proteínas gag (*group antigen*) e pol (polimerase), utilizadas para síntese de outras proteínas, que serão encapsidadas nos nucleocapsídeos. Na morfogênese, o genoma e enzimas virais serão encapsidados juntamente com as proteínas estruturais. A morfogênese será completada na fase de brotamento do nucleocapsídeo com a membrana plasmática. Em outras situações, os nucleocapsídeos são inicialmente montados no citoplasma e deslocados até a membrana plasmática, interagindo com a proteína da matriz e com as caudas das glicoproteínas, resultando no brotamento e egresso da partícula vírica.



Pesquise mais

Leia o artigo *Prevalência da infecção pelo vírus da Leucose dos bovinos em animais da raça Simental, criados no estado de São Paulo*. Acesse o link. Disponível em: <<http://arsveterinaria.org.br/index.php/ars/article/view/90/79>>. Acesso: 20 maio 2016.

Família *Coronaviridae*

A família *Coronaviridae* é constituída por dois gêneros: *Coronavirus* e *Torovirus*. O gênero *Coronavirus* é subdividido em três grupos (I, II e III), de acordo com a sua reatividade sorológica, enquanto que o gênero *Torovirus* não possui divisão por grupo antigênico. Os agentes virais pertencentes ao gênero *Coronavirus* causam importantes doenças víricas em animais domésticos, como a peritonite infecciosa dos felinos, a bronquite infecciosa das galinhas e a gastroenterite transmissível dos suínos. No gênero *Torovirus*, apenas dois agentes virais estão classificados, sendo o vírus Breda que infecta bovinos e o vírus Berne que infecta equinos.

Quadro 2.7 | Principais agentes virais pertencentes à família *Coronaviridae*.

Gênero	Grupo	Vírus	Hospedeiro	Doença
Coronavirus	I	Gastroenterite transmissível viral (TGEV)	Suínos	Gastroenterite
		Coronavirus Respiratório Suíno (PRCoV)	Suínos	Respiratória, subclínica
		Diarreia epidêmica suína (PEDV)	Suínos	Gastroenterite
		Peritonite infecciosa felina (FIPV)	Gatos	Peritonite
		Coronavirus felino (FCoV)	Gatos	Enterite, assintomática
		Coronavirus canino (CCoV)	Cães	Enterite
	II	Coronavirus humano (HCoV-229E)	Humanos	Resfriado comum
		Coronavirus bovino (BCoV)	Bovino	Gastroenterite
		Coronavirus dos perus (TCoV)	Perus	Enterite
		Coronavirus da hepatite do camundongo (MHV)	Camundongos	Hepatite
		Coronavirus humano (HCoV-OC43)	Humanos	Resfriado comum
III	Bronquite infecciosa das galinhas (IBV)	Galinhas	Traqueobronquite, nefrite	
Torovirus	-	Torovirus bovino (BToV)	Bovino	Subclínica
		Vírus Breda (BRV)	Bovino	Gastroenterite
		Torovirus equinos (EToV)	Equinos	Subclínica
		Vírus Berne (BEV)	Equinos	Gastroenterite
		Torovirus humano (HToV)	Humanos	Gastroenterite
		Torovirus suíno (PToV)	Suínos	Subclínica

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os agentes virais pertencentes à família *Coronaviridae* são envelopados, pleomórficos e seu diâmetro varia entre 80 e 120 nm. As proteínas S presentes na superfície, conferem à partícula vírica uma aparência similar a uma coroa, e têm como função auxiliar na ligação do vírion aos receptores celulares para que ocorra fusão do envelope e da membrana celular. No envelope está presente a proteína M, que interage com o nucleocapsídeo, auxiliando na morfogênese e brotamento dos vírions. Possui a proteína hemaglutinina-esterase (HE), que auxilia na clivagem do ácido siálico e na patogenicidade dos vírus em animais. Seu genoma é constituído por uma molécula de RNA de cadeia simples e polaridade positiva. O RNA genômico possui *cap* na extremidade 5', e a extremidade 3' é *poliadenilada*, sendo que as proteínas não-estruturais serão codificadas próximo à extremidade 5' e as proteínas estruturais próximo à extremidade 3'.



Vocabulário

Hospedeiro: espécie animal que abriga e permite a multiplicação de um agente biológico.

Hospedeiro natural ou reservatório: espécie animal na qual um determinado agente é mantido na natureza.

Vetor biológico: inseto que participa biologicamente da transmissão de um agente infeccioso (desenvolve alguma fase do seu ciclo no organismo do vetor para posterior transmissão).

Ciclo replicativo

Na etapa de adsorção, a glicoproteína S presente no envelope viral auxiliará na ligação dos receptores da membrana celular. Porém, alguns agentes virais pertencentes à família *Coronaviridae* utilizam a aminopeptidase N (metaloprotease) como receptor. Em seguida, a penetração pode ocorrer pelo mecanismo de endocitose ou pela fusão do envelope com a membrana da vesícula endocítica, sob um meio de pH ácido. Logo após a penetração, inicia-se o processo de desnudamento para liberação do genoma no citoplasma. Lá, o gene 1, presente no genoma, é traduzido em uma poliproteína, que será utilizada para síntese de enzimas, como a replicase viral, envolvida com a replicação da molécula de RNA. A enzima polimerase viral utiliza o RNA genômico para síntese de uma cópia de RNA de sentido negativo, a qual será utilizada como molde para síntese de RNA de extensão genômica e cópias de RNA mensageiros subgenômicos. O RNA de extensão genômica será utilizado na nova partícula vírica, e os RNAs subgenômicos serão utilizados para a síntese de proteínas estruturais e não-estruturais. Em

seguida, as proteínas serão processadas e utilizadas nas fases subsequentes do processo de replicação. De modo geral, a replicação do RNA genômico ocorre de forma contínua, com auxílio de um RNA de polaridade negativa, entretanto, em alguns casos, a síntese do RNA genômico tem ocorrido de forma descontínua, com o auxílio de uma sequência líder. O processo de morfogênese inicia-se com a associação de proteínas N e genoma viral para a formação do nucleocapsídeo, o qual irá interagir com a proteína M nas membranas do retículo endoplasmático e no complexo de Golgi, constituindo um novo envoltório (outras proteínas participaram do processo E e M). Em seguida, o vírion se desloca até a membrana plasmática e, por exocitose, ocorre o egresso da partícula vírica para o meio extracelular.



Faça você mesmo

Pesquise mais sobre as doenças e os sinais clínicos da família: *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Retroviridae* e *Coronaviridae*. Utilize o material de apoio: QUINN, P. J. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: EGK, 2003.

Sem medo de errar

Mediante os conteúdos abordados nesta seção, vamos resolver as questões da situação-problema. Vamos lá!

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os principais pontos da situação-problema. Conforme o laudo técnico, as amostras biológicas pertenciam a um gato jovem, com aproximadamente 2 anos de idade, sendo que a doença provocou o óbito do animal. O médico veterinário indicou a suspeita de um agente viral, com base no histórico de persistência da doença, sinais clínicos e achados da necropsia. O técnico procedeu com a análise dos materiais biológicos, utilizando a técnica de PCR em tempo real, com intuito de detectar e identificar o agente viral para proceder uma resolução do caso clínico.

Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, vamos responder às questões do caso clínico:

- Qual o possível agente patológico suspeito que acometeu o gato?

O agente patológico suspeito é o vírus da Peritonite infecciosa felina.

- Classifique o agente patológico em família, subfamília, gênero, espécie e sorotipo.

O agente patológico suspeito pertence à família *Coronaviridae*; gênero *Coronavirus*; Grupo I e espécie vírus da peritonite infecciosa felina.

- Descreva a estrutura viral dos vírus pertencentes à família do agente viral que acometeu o gato.

O agente viral pertence à família *Coronaviridae* é envelopado, pleomórfico e possui um diâmetro que varia entre 80 e 120 nm. Em sua superfície está presente a proteína S, o que confere à partícula vírica uma aparência similar a uma coroa, que tem como função auxiliar na ligação do vírion aos receptores celulares para que ocorra fusão do envelope e da membrana celular. O envelope contém a proteína M, que interage com o nucleocapsídeo, auxiliando na morfogênese e brotamento dos vírions. Possui a proteína hemaglutinina-esterase (HE), que auxilia na clivagem do ácido siálico e na patogenicidade dos vírus em animais. Seu genoma é constituído por uma molécula de RNA de cadeia simples e polaridade positiva. O RNA genômico possui *cap* na extremidade 5', e a extremidade 3' é poliadenilada, sendo que as proteínas não-estruturais serão codificadas próximo à extremidade 5' e as proteínas estruturais próximo à extremidade 3'.

Avançando na prática

Leucose Enzoótica Bovina

Recentemente, o médico veterinário de uma cooperativa foi solicitado para fazer um atendimento clínico em uma propriedade leiteira. O proprietário relatou que duas vacas, com aproximadamente 5 anos de idade, apresentavam perda peso, redução do consumo e debilidade generalizada, sendo necessário, inclusive, retirar as vacas de sua linha de produção. Durante o exame clínico, o veterinário constatou que os animais apresentavam sintomas de fraqueza, anorexia, aumento dos linfonodos superficiais (suspeita de massa tumoral) e ausência de febre. Uma das vacas apresentava exoftalmia unilateral. Em seguida, ele procedeu com a coleta de sangue e material biológico coletado na região ocular para biópsia, encaminhando-a para análise. As amostras foram identificadas individualmente, acondicionadas em recipientes apropriados e encaminhadas para análise laboratorial. Com base nos achados clínicos, o médico veterinário suspeitou de um agente viral. Desta forma, solicitou um exame para a sua detecção

Descrição da situação-problema

Em continuidade com o relato de caso, o técnico laboratorial recebeu o material biológico com um laudo técnico emitido pelo veterinário. De acordo com o laudo técnico, os achados clínicos (aumento dos linfonodos, suspeita de massa tumoral e exoftalmia unilateral) indicam a suspeita de um agente viral

pertencente à família *Retroviridae*. Com base nas informações e no tipo de material biológico, o técnico laboratorial elegeu o método de diagnóstico ELISA, direto para a detecção do agente viral. Os exames evidenciaram resultado positivo para o vírus da Leucose Enzoótica Bovina. Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda à seguinte questão para compreender melhor o caso clínico:

- Explique o ciclo replicativo dos agentes pertencentes à família *Retroviridae*.

Resolução da situação-problema

- Explique o ciclo replicativo dos agentes pertencentes a família *Retroviridae*.

O ciclo replicativo inicia-se com o processo de adsorção, que é mediado por receptores específicos presentes em cada agente viral. As principais células-alvo infectadas são as células do sistema imunológico (monócitos, macrófagos e/ou linfócitos). Em seguida, ocorre o processo de fusão entre o envelope viral e a membrana plasmática, tal processo é auxiliado por uma proteína transmembrana, que não é dependente da redução do pH. Após a penetração, o genoma é liberado no citoplasma (processo denominado de desnudamento) para que seja sintetizado o DNA provírus (mecanismo denominado de transcrição reversa). Sintetizado o DNA provírus (fita dupla), o mesmo desloca-se até o interior do núcleo, onde é inserido no cromossomo celular, com auxílio da enzima integrase. Nesta etapa, ocorre a incorporação definitiva de uma cópia do genoma viral no cromossomo do hospedeiro (etapa essencial para prosseguir com a replicação viral). Após integração, o DNA provírus é transcrito em RNAs mensageiros (RNA mensageiro subgenômico e RNA mensageiro com extensão total do genoma), com auxílio da enzima RNA polimerase II e fatores de transcrição celular. Os RNAs subgenômicos são exportados para o citoplasma para serem traduzidos em proteínas do envelope, enquanto que os RNAs mensageiros de extensão total do genoma serão traduzidos em proteínas *gag* (*group antigen*) e *pol* (polimerase), utilizadas para síntese de outras proteínas, que também poderão ser encapsidadas nos nucleocapsídeos. Na morfogênese, o genoma e enzimas virais serão encapsidados juntamente com as proteínas estruturais. A morfogênese será completada na fase de brotamento do nucleocapsídeo com a membrana plasmática. Em outras situações, os nucleocapsídeos são inicialmente montados no citoplasma e deslocados até a membrana plasmática, interagindo com a proteína da matriz e com as caudas das glicoproteínas, resultando no brotamento e egresso da partícula vírica.

Faça valer a pena

1. A família *Togaviridae* contém, aproximadamente, trinta espécies virais distribuídas em dois gêneros, denominados de _____ e _____. Os agentes virais pertencentes ao gênero _____ abrigam vários patógenos que acometem _____ e animais, os quais são transmitidos principalmente por vetores _____.

Assinale a alternativa correta que completa as lacunas:

- Alfavirus, Rubivirus, Alfavirus*, humanos, artrópodes.
- Rubivirus, Alfavirus, Rubivirus*, artrópodes, humanos.
- Flavivirus, Pestivirus, Flavivirus*, humanos, artrópodes.
- Pestivirus, Flavivirus, Pestivirus*, artrópodes, humanos.
- Hepacivirus, Pestivirus, Hepacivirus*, humanos, artrópodes.

2. Diversas doenças em animais domésticos (aves e equinos) e silvestres (aves e mamíferos) têm sido associadas com os agentes virais pertencentes à família *Togaviridae*. Com relação aos agentes virais pertencentes à família *Togaviridae* é correto afirmar:

I. Os vírus não são envelopados e possuem conformidade esférica ou pleomórficos.

II. O seu genoma é constituído por uma molécula de DNA de fita simples.

III. O RNA é linear e de polaridade positiva.

IV. Na organização estrutural do genoma, a extremidade 5' possui uma estrutura cap e a extremidade 3' é *poliadenilada*.

V. Sequências não-traduzidas são encontradas nas extremidades do genoma, as quais são utilizadas para transcrição e replicação do genoma.

Assinale a afirmativa correta:

- Apenas as afirmativas I, II e V estão corretas.
- Apenas as afirmativas II, III e IV estão corretas.
- Apenas as afirmativas IV e V estão corretas.
- Apenas as afirmativas III, IV e V estão corretas.
- Apenas as afirmativas II, III e V estão corretas.

3. No ciclo replicativo dos agentes virais pertencentes à família *Togaviridae*, o processo de penetração ocorre com auxílio de receptores denominados de E1 e/ou E2, seguido de internalização das partículas víricas, sendo que todo o processo é mediado pelo mecanismo de endocitose. Em seguida, ocorre a fusão do envelope viral com a membrana dos endossomos, em meio de pH baixo (5 a 6). Em função do processo de fusão ocorrer em pH baixo, estes vírus acabam sendo classificados como:

Assinale a alternativa correta:

- a) Vírus RNA de polaridade negativa.
- b) Vírus de pH-dependentes.
- c) Vírus DNA de polaridade positiva.
- d) Vírus RNA de polaridade positiva.
- e) Vírus DNA de polaridade negativa.

Seção 2.3

Classificação viral III

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos as estruturas biológicas, o ciclo replicativo e conheceremos as principais doenças causadas pelos agentes pertencentes às famílias: *Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Papillomaviridae*, *Poxviridae* e *Parvoviridae*. Para auxiliar na compreensão dos conteúdos abordados, vamos acrescentar novas informações à situação-problema apresentada no *Convite ao estudo*, dessa forma, você participará indiretamente da resolução do caso.

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário recebeu amostras para diagnóstico laboratorial. O médico veterinário encaminhou um laudo técnico anexo às amostras, contendo informações detalhadas do atendimento clínico e indicando a suspeita de um agente viral. De acordo com o laudo técnico, as amostras foram coletadas de um equino com aproximadamente 3,5 anos de idade. Na anamnese, o proprietário relatou que o animal se recusava a cobrir as éguas. Em seguida, o veterinário realizou o exame clínico da genitália do cavalo, constatando a presença de pápulas vermelhas, vesículas e início de formação de úlcera. Mediante as informações levantadas, o profissional suspeitou que o animal estava sendo acometido por um agente viral. Em seguida, o veterinário coletou amostras na genitália do animal. De acordo com o técnico laboratorial, as amostras recebidas continham material biológico da genitália do animal. Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Qual o possível agente patológico?
- Classifique o agente patológico em família, subfamília, gênero, espécie e sorotipo.
- Descreva a estrutura do agente viral.

Não pode faltar

Nesta seção abordaremos os métodos diretos de diagnóstico envolvendo a detecção de antígenos e ácidos nucleicos dos agentes virais. Vamos iniciar os estudos!

Família *Herpesviridae*

A família *Herpesviridae* possui três subfamílias: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammapherpesvirinae*. Os agentes virais de importância veterinária estão classificados nas subfamílias *Alphaherpesvirinae* e *Gammapherpesvirinae*. A subfamília *Alphaherpesvirinae* possui quatro gêneros, *Varicellovirus*, *Simplexvirus*, *Mardivirus* e *Iltovirus*, enquanto que os agentes virais pertencentes à subfamília *Gammapherpesvirinae* não são classificados em gênero, assim, o Herpesvirus ovino tipo 1 (OvHV-1) e o Herpesvirus suíno tipo 2 (SuHV-2) não possuem subfamília ou gênero.

Quadro 2.8 | Principais agentes virais pertencentes à família *Herpesviridae*

Subfamília	Gênero	Vírus	Doença
Alphaherpesvirinae	<i>Varicellovirus</i>	Herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1)	Rinotraqueite infecciosa bovina/ vulvovaginite pustular infecciosa/ balanopostite pustular infecciosa, abortos.
	<i>Simplexvirus</i>	Herpesvirus bovino tipo 2 (BoHV-2)	Mamilite herpética bovina
		Herpesvirus bovino tipo 5 (BoHV-5)	Encefalite herpética bovina
		Herpesvirus canino tipo 1 (CaHV-1)	Infecção herpética em cães
		Herpesvirus caprino tipo 1 (CpHV-1)	Infecção herpética em caprinos
		Herpesvirus equino tipo 1 (EHV-1)	Aborto herpético equino
		Herpesvirus equino tipo 3 (EHV-3)	Exantema coital equino
		Herpesvirus equino tipo 4 (EHV-4)	Rinopneumonite viral equina
		Herpesvirus felino tipo 1 (FeHV-1)	Rinotraqueite viral dos felinos
		Herpesvirus suíno tipo 1 (SuHV-1)	Doença de Aujeszky ou pseudorraiva
	<i>Mardivirus</i>	Herpesvirus galileo tipo 2 (GaHV-2)	Doença de Marek
<i>Iltovirus</i>	Herpesvirus galileo tipo 3 (GaHV-3)	Doença de Marek	

(continua)

Gammaherpesvirinae	Herpesvirus galideo tipo 1 (GaHV-1)	Laringotraqueite viral infecciosa
	Herpesvirus alcelaphine tipo 1 (ALHV-1)	Febre catarral maligna
	Herpesvirus bovino tipo 4 (BoHV-4)	Sinais respiratórios, abortos
	Herpesvirus ovino tipo 2 (OvHV-2)	Febre catarral maligna associada a ovinos
	Herpesvirus ovino tipo 1 (OvHV-1)	Adenomatose pulmonar associada a Herpesvirus
	Herpesvirus suíno tipo 2 (SuHV-2)	Citomegalovírus de suínos

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os agentes virais pertencentes à família *Herpesviridae* são envelopados, possuem simetria icosaédrica, com diâmetro variando entre 120 e 300 nm. O genoma é constituído por uma molécula de DNA linear de fita dupla e sua replicação ocorre no núcleo da célula hospedeira. Os genes são transcritos, com o auxílio da maquinaria celular (RNA polimerase e fatores de transcrição), em RNAs mensageiros, os quais possuem cap na extremidade 5' e têm a extremidade 3' *poliadenilada*.



Assimile

O genoma das famílias *Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Papillomaviridae*, *Poxviridae* e *Parvoviridae* são constituídos pelo ácido desoxirribonucleico.

Ciclo replicativo

O ciclo replicativo da subfamília *Alphaherpesvirinae* pode ocorrer como uma infecção aguda ou produtiva, e como uma infecção latente. Inicialmente, no processo de adsorção ocorre uma interação entre glicoproteínas C e D, presentes na partícula vírica, e as moléculas de glicosaminoglicanos (sulfato de heparina), presentes na membrana celular da célula hospedeira. Em seguida, ocorre a fusão do envelope com a membrana plasmática (evento que ocorre na superfície celular), sem internalização por endocitose ou acidificação dos endossomos. Posterior à fusão, algumas proteínas do tegumento se dissociam do nucleocapsídeo no citoplasma e outras se deslocam até o núcleo celular. Próximo a ele, o nucleocapsídeo associa-se aos poros nucleares para liberação do genoma no interior do núcleo. Logo em seguida, a transcrição do genoma inicia-se com auxílio da DNA polimerase II e de fatores celulares e virais. A transcrição ocorre de forma sequencial, produzindo primeiramente os genes alfa (transcrição imediata), seguidos dos genes beta (iniciais) e gama (tardios). Os produtos

dos genes alfa produzem proteínas ICP0, ICP4, ICP22, ICP27 e ICP47; a partir dos genes beta incluem-se as enzimas timidina quinase, ribonucleotídeo redutase, proteínas de ligação ao DNA, helicase e DNA polimerase viral. Os genes tardios produzem as proteínas estruturais do núcleo: capsídeo e envelope. A replicação do genoma é dependente de proteínas codificadas, fatores celulares, DNA polimerase, DNA ligase e topoisomerase II. Inicialmente, uma molécula de DNA é sintetizada na forma circularizada, posteriormente, ocorre uma replicação bidirecional e, por fim, ocorre a alteração para um mecanismo de círculo rolante. Após a síntese das proteínas estruturais (proteínas tardias), o processo de montagem do nucleocapsídeo inicia-se no citoplasma e é finalizado no núcleo. As proteínas estruturais são transportadas para o interior do núcleo, onde ocorre a montagem do capsídeo com o DNA genômico no seu interior. Após o encapsidamento do genoma, ocorre o processo de brotamento na membrana nuclear interna, com auxílio de proteínas do tegumento e glicoproteínas virais. Esse processo é descrito de duas formas: na primeira forma, o nucleocapsídeo pode adquirir o envelope por brotamento, por meio da membrana nuclear interna, e, em seguida, perde a membrana, liberando o capsídeo para o citoplasma; na segunda forma, o nucleocapsídeo é encaminhado diretamente para ao complexo de Golgi, onde irá adquirir o envelope. Por fim, as partículas víricas serão transportadas em vesículas até a superfície celular, na qual ocorre o egresso por exocitose para o meio extracelular.

Família *Adenoviridae*

A família *Adenoviridae* é composta por quatro gêneros, *Mastadenovirus*, *Aviadenovirus*, *Atadenovirus* e *Siadenovirus*, abrangendo uma gama de agentes virais que podem acometer animais e seres humanos. Os agentes virais da família *Adenoviridae* são classificados pela organização genômica e pela similaridade do gene que codifica a proteína *hexon* dos *vírions*.

Quadro 2.9 | Principais agentes virais de interesse veterinário pertencentes à família *Adenoviridae*

Gênero	Vírus	Hospedeiro	Doença
<i>Mastadenovirus</i>	Adenovírus bovino (BAdV-A, BAdV-B e BAdV-C)	Bovinos	Infecção subclínica ou doença respiratória leve
	Adenovírus canino (CAdV-1 e CAdV-2)	Cães	CAdV-1: Hepatite infecciosa; CAdV-2: Traqueobronquite infecciosa (tosse dos canis)
	Adenovírus equino (EAdV-A e EAdV-B)	Equinos	Infecção subclínica ou doença respiratória leve. Broncopneumonia e doença generalizada com imunodeficiência
	Adenovírus ovino (OAdV-A, OAdV-B e OAdV-C)	Ovinos	Infecção subclínica ou doença respiratória leve
	Adenovírus suíno (PAdV-A, PAdV-B e PAdV-C)	Suínos	Infecção subclínica ou doença respiratória leve
	Adenovírus caprino (GAdV-A)	Caprinos	Infecção subclínica ou doença respiratória leve

(continua)

<i>Avianadenovirus</i>	Adenovirus aviário (FAdV-A, FAdV-B, FAdV-C, FAdV-D e FAdV-E)	Galinhas	Hepatite, doença respiratória
	Adenovirus de Gansos (GoAdV)	Gansos	Isolado de fígado e intestino
<i>Atadenovirus</i>	Adenovirus bovino (BAdV-D e BAdV-E)	Bovinos	Infecção assintomática ou doença respiratória
	Adenovirus de patos A (DAdV-A)	Galinhas	Hepatite em patos e síndrome da queda DAdV-A de postura
	Adenovirus ovino D (OAV-D)	Ovinos	Infecção assintomática ou doença OAV-D respiratória leve
<i>Siadenovirus</i>	Adenovirus de perus A (TAdV-A)	Faisões	Enterite hemorrágica em perus e TAdV-A pancreatite

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os agentes virais pertencentes à família *Herpesviridae* não possuem envelope, são hexagonais e icosaédricos, com diâmetro aproximado de 80 nm. Possuem um prolongamento proteico na superfície do capsídeo, o qual é denominado de fibra. Seu genoma é constituído por uma molécula de DNA linear de fita dupla e sua replicação ocorre no núcleo da célula hospedeira. O genoma possui 11 regiões (cinco iniciais, duas intermediárias e uma tardia) de transcrição, as quais codificaram proteínas não-estruturais (iniciais) e estruturais (tardias).



Refleta

No manejo sanitário, a vacinação dos animais é um dos principais procedimentos para propiciar proteção contra agentes patogênicos. As vacinações devem ser de acordo com o cronograma para atender às necessidades do rebanho.

Ciclo replicativo

No processo inicial de adsorção, as fibras de pentons ligam-se com os receptores específicos presentes na membrana celular (integrinas). Diferentes receptores estão presentes na membrana celular, os quais podem ser denominados de adenovirus Coxsackie (CAR) e vitronectina. Em seguida, a partícula vírica é internalizada por endocitose, mediada pela proteína clatrina. A vesícula com a partícula vírica é deslocada até o núcleo, sendo que no decorrer do percurso o meio intravesicular é acidificado. O processo de acidificação auxiliará na desintegração do capsídeo e liberação dos demais componentes. Próximo dos poros presentes na membrana do núcleo, o genoma é transferido para o interior nuclear. Com auxílio da enzima RNA polimerase II e fatores celulares, inicia-se o processo de transcrição. Na transcrição de genes, de

acordo com a região do genoma, serão produzidos produtos que controlam o ciclo celular para estabelecer um ambiente favorável (região E1A), produtos envolvidos na replicação do DNA viral (região E2) e fatores de virulência (região E3). A replicação do DNA ocorre de forma contínua e em duas etapas: na primeira etapa, uma das cadeias é replicada em uma molécula de fita dupla, enquanto a outra cadeia é circularizada; na segunda etapa, a cadeia circularizada é linearizada e o processo de replicação é finalizado quando as duas cadeias de DNA são replicadas. Finalizada a replicação do DNA e a transcrição dos genes iniciais e intermediários, a expressão gênica passa a transcreever os genes tardios no ribossomo, os quais produzirão as proteínas estruturais que serão transferidas para o núcleo onde ocorrerá a montagem da partícula vírica. Em seguida, ocorrerá o acúmulo das partículas víricas no interior do núcleo e o egresso ocorrerá por lise celular, após a morte celular.

Família *Papillomaviridae*

A família *Papillomaviridae* foi originada a partir do desmembramento da família *Papovaviridae*, cujo nome é derivado das iniciais de seus três membros: *Papillomavirus*, *Polyomavirus* e *Simian Vacuolating Agent* – SV40. Essa separação ocorreu no ano 2000 e foi feita pelo Comitê Internacional para Taxonomia de Vírus. A família *Papillomaviridae* é caracterizada pela presença de lesões tumorais benignas e malignas nos epitélios cutâneos e mucosos. Com base nas propriedades filogenéticas, a família *Papillomaviridae* é composta por dezesseis gêneros. Os papilomavírus têm sido descritos em diferentes espécies animais, como aves, animais domésticos e silvestres, além de acometerem os seres humanos.

Quadro 2.10 | Principais agentes virais de interesse veterinário pertencentes à família *Papillomaviridae*

Gênero	Espécie	Patologia
<i>Deltapapillomavirus</i>	Papilomavirus do alce europeu; Papilomavirus do cervo; Papilomavirus ovino 1; Papilomavirus bovino 1 e 2	Lesões fibropapilomatosas em ungulados
<i>Epsilonpapillomavirus</i>	Papilomavirus bovino 5	Lesões cutâneas em bovinos, fibropapilomas nos tetos ("grãos de arroz")
<i>Zetapapillomavirus</i>	Papilomavirus equino 1	Lesões cutâneas em equinos
<i>Etapapillomavirus</i>	Papilomavirus do Chaffinch	Lesões cutâneas em aves
<i>Thetapapillomavirus</i>	Papilomavirus dos papagaios	Lesões cutâneas em aves
<i>Kappapapillomavirus</i>	Papilomavirus dos coelhos cauda-de-algodão; Papilomavirus oral dos coelhos	Lesões cutâneas e de mucosas em coelhos
<i>Lambdapapillomavirus</i>	Papilomavirus oral canino; Papilomavirus felino	Papilomavirus animal que causa lesões cutâneas e de mucosas
<i>Xipapillomavirus</i>	Papilomavirus bovino 3	Papilomavirus que induz verdadeiros papilomas no hospedeiro, causando lesões cutâneas e de mucosas
<i>Pipapillomavirus</i>	Papilomavirus oral dos hamsters	Lesões mucosas em hamsters

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os agentes virais pertencentes à família *Papillomaviridae* não são constituídos de envelope, são pequenos, possuem simetria icosaédrica e com diâmetro aproximado entre 52 e 55 nm. O genoma é complexo, constituído por uma molécula de DNA de fita dupla circular. Não há diferenças na organização genômica entre os gêneros pertencentes à família *Papillomaviridae*.

Ciclo replicativo

O processo de adsorção é mediado por uma molécula sem identidade conhecida. Em seguida, a partícula vírica penetra por endocitose e se desloca até o núcleo da célula hospedeira. Durante o processo de deslocamento, a partícula vírica passa pelo processo de desnudamento e, em seguida, o genoma é liberado e introduzido no núcleo celular por meio dos poros presentes na membrana nuclear. No núcleo, a expressão gênica ocorre aproximadamente após quatro semanas. A expressão gênica dos *Papilomavirus* é complexa em função da participação de vários componentes e formas de transcrição. De modo geral, as oncoproteínas virais interferem no ciclo celular, sendo que o genoma do papilomavírus é mantido nas células tumorais. A replicação viral ocorre de acordo com as fases de diferenciação celular, assim, o DNA passa a ser replicado em conjunto com o ciclo de divisão celular e a síntese de cópias do DNA viral torna-se constante e descontrolada. O processo de morfogênese e maturação ainda ocorre no núcleo celular, as proteínas tardias são expressas, ocorrendo a morfogênese do capsídeo, mesmo na ausência do DNA viral. Com auxílio de uma proteína codificada, a queratina intracelular é desestabilizada e as partículas víricas serão liberadas para o meio extracelular.

Família *Poxviridae*

Os agentes virais pertencentes à família *Poxviridae* estão inclusos em duas subfamílias: *Entomopoxvirinae*, que infectam insetos, e *Chordopoxvirinae*, que infectam animais vertebrados. A subfamília *Chordopoxvirinae* contém oito gêneros: *Orthopoxvirus*, *Capripoxvirus*, *Suipoxvirus*, *Leporipoxvirus*, *Avipoxvirus*, *Molluscipoxvirus*, *Yatapoxvirus* e *Parapoxvirus*.

Quadro 2.11 | Principais agentes virais de interesse veterinário pertencentes à família *Poxviridae*

Gênero	Vírus	Espécies animais	Informações
<i>Orthopoxvirus</i>	Vírus da vaccínia	Bovinos, suínos, coelhos e equinos	Causa infecções. Usado como vetor viral recombinante para a vacina da raiva
	Vírus da variola bovina	Roedores, gatos e bovinos	Roedores são reservatórios. A infecção causa lesões na pele e raras lesões nos tetos em bovinos
	Vírus da variola dos camelos	Camelos	Provoca infecção sistêmica com lesões típicas de pox. Infecção severa em camelos jovens
	Vírus Uasin Gishu	Vários, equinos	Provoca lesões de pele semelhantes às dos papilomas
	Vírus da variola dos macacos	Esquilos, humanos e macacos	Presente no Oeste e Centro da África
	Vírus da ectromelia	Camundongos	Presente na Europa
<i>Capripoxvirus</i>	Vírus da variola dos ovinos	Ovinos	Transmissível para humanos. Provoca lesões proliferativas no focinho e lábios
	Vírus da variola dos caprinos	Caprinos	Transmissível para humanos. Provoca lesões proliferativas no focinho e lábios
	Vírus da doença da pele nodulosa	Bovinos e búfalos	Presente na África e Ásia
<i>Suipoxvirus</i>	Vírus da variola dos suínos	Suínos	Transmissão pelo piolho do suíno. Provoca uma doença de pele moderada
<i>Avipoxvirus</i>	Vírus da variola (bouba) aviária	Frangos e perus	Transmitida por artrópodes. Provoca lesões na cabeça e na membrana da mucosa oral
<i>Leporipoxvirus</i>	Vírus do mixoma	Coelhos	Provoca uma doença branda
<i>Molluscipoxvirus</i>	Vírus do molluscum contagiosum	Humanos	Presente em todo mundo
<i>Yatapoxvirus</i>	Vírus yabapox e vírus tanpox	Macacos e humanos	Presente no oeste da África
<i>Parapoxvirus</i>	Vírus da pseudovariola bovina	Bovinos	Provoca lesões nos tetos de vacas leiteiras. Em humanos, causa nódulo do ordenhador
	Vírus da estomatite papular bovina	Bovinos	Transmissível para humanos. Provoca lesões papulares no focinho e na cavidade oral
	Vírus orf (ectima contagioso)	Ovinos e Caprinos	Provoca lesões proliferativas no focinho e nos lábios
	Vírus Ausdik	Camelos	Presente na África e Ásia
	Parapoxvírus das baleias	Baleias e humanos	Presente em todo mundo

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os agentes virais da família *Poxviridae* possuem envelope, apresentam uma simetria complexa, sendo que alguns contêm formato de tijolo, com diâmetro entre 220 e 450 nm x 140 e 260 nm, e outros formatos ovoides, com diâmetro entre 250 e 300 nm x 160 e 190 nm. O genoma é constituído por uma molécula de DNA linear de fita dupla. Durante o brotamento, a partícula vírica adquire um envelope complementar, sendo que as que não adquirem o envelope são menos infecciosas. As partículas víricas que não adquiriram o envelope complementar são liberadas para o meio extracelular mediante a lise celular.



Exemplificando

A **infecção latente** é caracterizada pela presença do genoma do agente no hospedeiro, com uma expressão gênica ausente ou limitada e sem produção de um agente infeccioso.

A **infecção persistente** ou crônica refere-se a um processo infeccioso que persiste por um longo tempo.

A **infecção sistêmica** refere-se a um processo de infecção que foi disseminado por via sanguínea a vários órgãos e tecidos.

Ciclo replicativo

No processo de adsorção, as partículas víricas se ligam nos receptores de superfície da membrana celular e penetram por fusão do envelope com a membrana plasmática. Após penetração por endocitose, a partícula vírica libera o genoma viral no citoplasma, em seguida, produtos são codificados para que ocorra a transcrição de proteínas estruturais e não-estruturais, que auxiliarão na replicação do genoma. O processo de expressão gênica compreende-se em três etapas: transcrição de genes iniciais, intermediários e tardios. Com o auxílio da enzima RNA polimerase e outros fatores celulares, o processo de transcrição é iniciado. No citoplasma, a replicação ocorrerá em locais determinados, os quais são denominados de viroplasmas. A replicação da molécula de DNA inicia-se a partir das extremidades do genoma, resultando na produção de milhares de cópias do genoma viral. Na replicação inicial, os produtos dos genes iniciais ligam-se aos promotores de genes intermediários e tardios, iniciando a codificação de proteínas. Os produtos intermediários estão envolvidos com a transcrição dos genes tardios, enquanto que os genes tardios irão sintetizar proteínas estruturais, que auxiliarão no processo de morfogênese. As partículas víricas com envelope irão adquiri-lo em um processo que ocorrerá no complexo de Golgi. Desta forma, as partículas víricas envelopadas serão liberadas

para o meio extracelular pelo mecanismo de brotamento. Para as partículas víricas não-envelopadas o processo de egressão ocorrerá quando houver a lise celular.



Pesquise mais

Leia o artigo sobre *Análise filogenética de papilomavírus bovino associado com lesões cutâneas em rebanhos do Estado do Paraná*.

Acesse o link. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/pesqvetbras/article/viewFile/13966/14831>>. Acesso: 26 maio 2016.

Família *Parvoviridae*

A família *Parvoviridae* é constituída por duas subfamílias, a *Parvovirinae* e a *Densovirinae*. Os agentes virais pertencentes à subfamília *Parvovirinae* infectam animais vertebrados, enquanto que os agentes virais da subfamília *Densovirinae* infectam os insetos. A subfamília *Parvovirinae* possui cinco gêneros de importância veterinária.

Quadro 2.12 | Principais agentes virais de interesse veterinário pertencentes à família *Parvoviridae* (subfamília *Parvovirinae*)

Gênero	Vírus	Hospedeiro	Manifestações clínicas
<i>Parvovirus</i>	Parvovirus de galinha (chpv)	Galinhas	Subclínica
	Vírus da panleucopenia felina (FPLV)	Gatos	Doença entérica e sistêmica altamente contagiosa. Apresenta depressão, vômito e diarreia. Causa panleucopenia, enterite, hipoplasia cerebelar
	Parvovirus canino (CPV)	Cães	Doença entérica altamente contagiosa, com depressão, vômito, disenteria e imunossupressão. Causa leucopenia, miocardite, enterite
	Vírus da enterite das martas (MEV)	Martas (<i>M. Vision</i>)	Panleucopenia, enterite
	Parvovirus dos mãos-peladas (RPV)	Mão-pelada (<i>raccoon</i>)	Panleucopenia, enterite
	Vírus minuto dos camundongos (MMV ou MVM)	Camundongos	Deformidades congênitas
	Parvovirus suíno (PPV)	Suínos	Principal causa de natimortos, fetos mumificados, Infertilidade e aborto.
<i>Dependovirus</i>	Parvovirus de gansos (GPV)	Gansos	Doença altamente contagiosa. Causa hepatite, miocardite e miosite
	Parvovirus de patos <i>Muscovy</i> (MDPV)	Patos	Hepatite e miocardite

(continua)

<i>Bocavirus</i>	Parvovirus bovino (BPV)	Bovinos	Surtos esporádicos de diarreia. Doença subclínica
	Vírus minuto canino (cnmv)	Cães	Difusão ampla do vírus. Causa diarreia
<i>Amdovirus</i>	<i>Aleutian mink disease virus</i> (AMDV)	Martas	Encefalopatia

Fonte: adaptado de Flores (2012) e Quinn (2005).

Estrutura viral

Os vírus pertencentes à família *Parvoviridae* não possuem envelope, são icosaédricos e com tamanho variando entre 18 e 26 nm. A superfície dos vírus apresenta depressões, protuberâncias e estruturas cilíndricas circundadas por depressões, as quais são importantes no processo de adsorção da partícula vírica. O genoma é constituído por uma molécula de DNA de fita simples linear. A replicação do genoma ocorre no núcleo celular com formação de corpúsculos de inclusão intracelulares.



Assimile

Pandemia: refere-se a uma epidemia de proporções continentais ou mundiais.

Paraendêmica: refere-se a uma doença de ocorrência esporádica ou rara.

Letalidade: refere-se a uma medida da mortalidade entre os animais que desenvolvem uma determinada doença.

Ciclo replicativo

O ciclo replicativo inicia-se com o processo de adsorção e com o reconhecimento e ligação dos receptores (TfR, sialoglicoproteínas, carboidratos, sulfato de heparina, integrina) virais na membrana celular da célula hospedeira. A penetração da partícula vírica é mediada por endocitose, em seguida, a partícula é deslocada até as proximidades do núcleo da célula. Nos endossomos, as partículas passam por um processo de acidificação, que promove alterações na conformação do capsídeo. Essas interações compreendem-se em exposição da região amino-terminal da VP1, clivagem da região amino-terminal da VP2 e desnudamento do genoma. A região amino-terminal da VP1 é determinante na localização na membrana nuclear e na introdução do DNA e proteínas para o núcleo celular. No núcleo, inicia-se a síntese de DNA complementar, a qual irá sintetizar uma molécula de DNA de fita dupla, com auxílio da enzima DNA polimerase e fatores celulares. A molécula de DNA de fita dupla será utilizada como molde pela RNA polimerase II na síntese de

RNAs mensageiros. Em seguida, ocorrerá a expressão das proteínas NS1 e NS2. A NS1 auxiliará na expressão das proteínas estruturais (VP1, VP2 e VP3) e na fase final da replicação do DNA (funções de helicase e endonuclease). A replicação inicia-se após o ingresso do genoma no núcleo celular por um mecanismo descrito como círculo rolante modificado. Nesse processo, ocorrerá a síntese de cadeias de DNA complementares, as quais servirão de molde para serem utilizadas no processo de transcrição para a produção de quatro cópias do genoma viral (duas de polaridade negativa e duas positivas), com auxílio da endonuclease (NS1). Na morfogênese, a molécula de DNA (polaridade negativa ou positiva) será encapsidada, sendo que, de modo geral, a molécula de DNA de polaridade negativa é eleita para encapsidação. A maturação ocorre no núcleo celular e o egresso das partículas víricas ocorre por lise celular.



Faça você mesmo

Pesquise mais sobre as doenças e os sinais clínicos da família: *Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Papillomaviridae*, *Poxviridae* e *Parvoviridae*. Utilize o material de apoio: QUINN, P. J. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: EGK, 2003.

Sem medo de errar

Mediante os conteúdos abordados nesta seção, vamos resolver as questões da situação-problema. Vamos lá!

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os principais pontos da situação-problema. Conforme o laudo técnico, as amostras biológicas pertenciam a um equino com aproximadamente 3,5 anos de idade, que estava recusando-se a cobrir as éguas. O médico veterinário indicou a suspeita de um agente viral com base nas lesões apresentadas pelo animal. O técnico procedeu com a análise do material biológico, utilizando microscopia eletrônica e isolamento do vírus na cultura dos tecidos.

Mediante as informações apresentadas, e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, vamos responder às questões do caso clínico:

- Qual o possível agente patológico?

Herpesvirus equino tipo 3, causador do exantema coital equino.

- Classifique o agente patológico em família, subfamília, gênero, espécie e sorotipo.

Família *Herpesviridae*; Subfamília *Alphaherpesvirinae*; Espécie *Herpesvirus equino*; sorotipo 3 (EHV-3).

- Descreva a estrutura do agente viral.

Os agentes virais pertencentes à família *Herpesviridae* são envelopados, possuem simetria icosaédrica e com diâmetro que varia entre 120 e 300 nm. Seu genoma é constituído por uma molécula de DNA linear de fita dupla e sua replicação ocorre no núcleo da célula hospedeira.

Avançando na prática

Bouba aviária ou Difteria aviária

Recentemente, o médico veterinário da Cooperativa de Aves foi solicitado para fazer um atendimento clínico em uma propriedade rural. O proprietário relatou que alguns frangos apresentavam algumas saliências na forma de nódulos na crista. Durante o exame clínico, o veterinário constatou que algumas aves apresentavam lesões nodulares na crista, barbela e em outras áreas da pele em que não havia penas. Em outras aves, foram observadas vesículas e ulcerações com formação de crostas. Também foram observadas lesões necróticas amareladas na mucosa da boca. Duas aves com lesões necróticas foram sacrificadas para a realização da necropsia e coleta de amostras. Na necropsia, foram observadas lesões necróticas no esôfago e traqueia. Com base nos achados clínicos, o médico veterinário suspeitou de um agente viral. Desta forma, encaminhou as amostras para serem analisadas em laboratório, a fim de confirmar a suspeita.

Descrição da situação-problema

Em continuidade com o relato de caso, o técnico laboratorial recebeu o material biológico com um laudo técnico emitido pelo médico veterinário. De acordo com o laudo técnico, os achados clínicos (lesões nodulares, vesículas, ulcerações e lesões necróticas) indicam a suspeita de um agente viral pertencente à família *Poxviridae*. Com base nas informações e no tipo de material biológico, o técnico laboratorial elegeu o método de diagnóstico imunofluorescência para detecção do agente viral. Os exames evidenciaram resultado positivo para o vírus da varíola (bouba) aviária. Mediante as informações apresentadas, e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda à seguinte questão para compreender melhor o caso clínico:

- Explique o ciclo replicativo dos agentes pertencentes à família *Poxviridae*.

Resolução da situação-problema

- Explique o ciclo replicativo dos agentes pertencentes à família *Poxviridae*.

No processo de adsorção, as partículas víricas ligam-se em receptores da superfície da membrana celular e penetram por fusão do envelope com a membrana plasmática. Após penetração por endocitose, a partícula vírica libera o genoma viral no citoplasma, em seguida, produtos são codificados para que ocorra a transcrição de proteínas estruturais e não-estruturais, que auxiliarão na replicação do genoma. O processo de expressão gênica compreende-se em três etapas: transcrição de genes iniciais, intermediários e tardios. Com o auxílio da enzima RNA polimerase e outros fatores celulares, o processo de transcrição é iniciado. No citoplasma, a replicação ocorrerá em locais determinados, sendo denominados de viroplasmas. A replicação da molécula de DNA inicia-se a partir das extremidades do genoma, resultando na produção de milhares de cópias do genoma viral. Na replicação inicial, os produtos dos genes iniciais ligam-se aos promotores de genes intermediários e tardios, iniciando a codificação de proteínas. Os produtos intermediários estão envolvidos com a transcrição dos genes tardios, enquanto que os genes tardios irão sintetizar proteínas estruturais, que auxiliaram no processo de morfogênese. As partículas víricas com envelope irão adquiri-lo em um processo que ocorrerá no complexo de Golgi. Desta forma, as partículas víricas envelopadas serão liberadas para o meio extracelular pelo mecanismo de brotamento. Para as partículas víricas não-envelopadas, o processo de egressão ocorrerá quando houver a lise celular.

Faça valer a pena

1. A família *Herpesviridae* possui três subfamílias: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae*, sendo que os agentes virais de importância veterinária estão classificados nas subfamílias _____ e _____.

Assinale a alternativa correta que completa as lacunas:

- Alphaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae*.
- Betaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae*.
- Betaherpesvirinae* e *Alphaherpesvirinae*.
- Entomopoxvirinae* e *Chordopoxvirinae*.
- Entomopoxvirinae* e *Betaherpesvirinae*.

2. Na família *Herpesviridae*, os agentes virais possuem três subfamílias: *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae*.

Dentre estas famílias, as subfamílias *Alphaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae* apresentam agentes de importância veterinária. A subfamília *Alphaherpesvirinae* apresenta quatro gêneros que são _____, _____, _____ e _____.

Assinale alternativa que completa as lacunas corretamente:

- a) Papilomavirus equino 1, *Simplexvirus*, *Mardivirus* e *Iltovirus*.
- b) *Varicellovirus*, *Simplexvirus*, *Mardivirus* e Vírus da pseudovariola bovina.
- c) *Varicellovirus*, Vírus da estomatite papular bovina, *Mardivirus* e *Iltovirus*.
- d) *Varicellovirus*, *Simplexvirus*, Vírus da panleucopenia felina e *Iltovirus*.
- e) *Varicellovirus*, *Simplexvirus*, *Mardivirus* e *Iltovirus*.

3. Os agentes virais pertencentes à família *Herpesviridae* não possuem _____, são hexagonais, icosaédricos, com diâmetro aproximado de 80 nm. Seu genoma é constituído por uma molécula de _____ e sua replicação ocorre no núcleo da célula hospedeira.

Assinale a alternativa correta:

- a) Capsídeo e DNA linear de fita dupla.
- b) Envelope e DNA linear de fita dupla.
- c) Envelope e DNA circular de fita dupla.
- d) Capsídeo e RNA linear de fita dupla.
- e) Envelope e RNA linear de fita dupla.

Seção 2.4

Doenças virais veterinárias

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, vamos recapitular as principais características e agentes pertencentes às famílias virais que estudamos nas seções anteriores (classificação viral I, II e III). Em seguida, vamos conhecer algumas doenças causadas pelos agentes virais. Para auxiliar na compreensão do conteúdo abordado, vamos acrescentar novas informações na situação-problema apresentada no *Convite ao estudo*, dessa forma, você participará indiretamente da resolução do caso. Vamos lá!

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário recebeu amostras para diagnóstico laboratorial. O médico veterinário encaminhou um laudo técnico anexo às amostras, contendo poucas informações do atendimento clínico e indicando a suspeita de um agente viral da anemia infecciosa equina. De acordo com o laudo técnico, as amostras foram coletadas de um equino com aproximadamente três anos de idade. Na anamnese, o proprietário relatou que o animal adentrou a propriedade vizinha e permaneceu por 15 dias em contato com outros equinos. O veterinário não disponibilizou mais informações no laudo, solicitando apenas a confirmação da suspeita do agente viral. De acordo com o técnico laboratorial, as amostras (sangue com anticoagulante EDTA) estavam adequadamente armazenadas. Mediante as informações apresentadas, e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Quais as espécies animais que o agente viral pode acometer?
- Descreva a sintomatologia da anemia infecciosa equina.
- Descreva a lesão que ocorre nos componentes do sangue e que desencadeia a anemia nos animais infectados.
- Ao final da seção, o aluno deverá entregar um diagnóstico laboratorial de uma determinada infecção viral de importância clínica veterinária.

Não pode faltar

Nesta seção vamos abordar as principais características e agentes pertencentes às famílias virais que estudamos nas seções anteriores. Vamos iniciar os estudos!



Refleta

Entender a prevalência e a distribuição das doenças virais em animais de produção e de companhia é de grande importância para implementar medidas de prevenção, principalmente com adoção de práticas de vacinação.

Principais doenças de importância na medicina veterinária cujos agentes estão classificados nas famílias virais

Classificação viral I

Na classificação viral I, vamos abordar as principais características e agentes virais pertencentes às famílias *Picornaviridae*, *Flaviviridae*, *Retroviridae* e *Coronaviridae*.

Família *Picornaviridae*

Características dos agentes virais: vírus-RNA de fita simples, polaridade positiva, não-envelopados e replicam-se no citoplasma.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Vírus da febre aftosa; Vírus da rinite equina A; Vírus da hepatite dos patos; Vírus da encefalomiocardite; Vírus da doença vesicular dos suínos e Enterovírus bovino.

Família *Rhabdoviridae*

Características dos agentes virais: vírus-RNA de fita simples, polaridade negativa, envelopados e replicam-se no citoplasma.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Vírus da estomatite vesicular; Vírus da raiva; Vírus da febre efêmera dos bovinos e Vírus da necrose hematopoiética.

Família *Paramyxoviridae*

Características dos agentes virais: vírus-RNA de fita simples, polaridade negativa, envelopados e replicam-se no citoplasma.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Vírus da parainfluenza bovina 3; Vírus Sendai; Vírus da parainfluenza humana 1 e 3; Vírus da cinomose; Vírus da peste

bovina; Vírus da peste dos pequenos ruminantes; Vírus da parainfluenza canina 2; Rubulavirus suíno; Vírus Hendra; Vírus Nipah; Vírus da doença de Newcastle ou paramixovírus aviário 1; Vírus respiratório sincicial bovino; Vírus respiratório sincicial ovino e Vírus da rinotraqueíte dos perus ou pneumovírus aviário.



Assimile

Uma célula susceptível é aquela que apresenta condições para o desenvolvimento completo do ciclo replicativo.

Agora, vamos conhecer a distribuição geográfica, as espécies animais acometidas, a sintomatologia, as lesões, o tratamento e os métodos de diagnóstico de algumas doenças causadas por agentes virais da classe viral I. Vamos lá!

Febre Aftosa

A febre aftosa é causada por um agente viral pertencente ao gênero *Aphthovirus*, da família *Picornaviridae*. Ela está presente no continente africano, na América do Sul, na Ásia e em algumas regiões da Europa. Alguns países, como Inglaterra, Irlanda, Japão, Austrália, Nova Zelândia e América Central e do Norte, são considerados livres da febre aftosa. O agente viral está classificado em sete sorotipos (O, A, C, SAT1, STA2, SAT3 e Ásia1), conforme a região. Na América do Sul, estão presentes os sorotipos O, A e C; na África, estão presentes os sorotipos SAT1, 2, 3, A, O e C; na Ásia, estão presentes os sorotipos A, O, C e Ásia1. O vírus acomete espécies animais de casco biungulados, como bovinos, bubalinos, ovinos, caprinos, suínos, ruminantes silvestres. Essa doença é caracterizada por febre, salivação excessiva, laminite e lesões vesiculares nas mucosas da boca (gengiva e língua), nos espaços interdigitais, no úbere, nos tetos e na borda coronária do casco. A presença de lesões vesiculares na boca pode reduzir a ingestão de alimentos, e causar perda de peso nos animais. No caso de lesões vesiculares no espaço interdigital ou na borda coronária dos cascos, temos um quadro que favorece infecções secundárias e o desenvolvimento de complicações podais. Sua transmissão ocorre por contato direto, por aerossóis, fômites e vetores. Em produtos cárneos (bacon, embutidos e presunto), o vírus pode estar viável por até 2 meses e, na carne congelada, por até 3 meses. No estágio virêmico, o vírus provoca lesões e sinais clínicos. As lesões apresentam formação de vesículas, decorrentes da lise das células infectadas, edema celular, extravasamento de líquidos do edema, alterações degenerativas e necrose do músculo cardíaco. Na musculatura cardíaca e esquelética, pode-se observar estrias amareladas no sentido longitudinal e necrose do miocárdio, aspecto denominado de coração tigrado. Não há tratamento e as medidas de prevenção incluem a restrição de importação de animais, fômites e produtos de origem animal de regiões endêmicas. A implementação de programas de vacinação

no rebanho deve ser seguida conforme o órgão de fiscalização. Em países livres da doença, animais infectados são colocados em quarentena e sacrificados.

Diagnóstico laboratorial: Isolamento viral; Fixação de complemento; Soro neutralização; ELISA de captura; RT-PCR e PCR em tempo real.

Doença Vesicular dos Suínos

A doença vesicular suína é uma enfermidade moderadamente contagiosa e aguda. O agente viral, "vírus da doença vesicular dos suínos", pertence ao gênero *Enterovirus*, da família *Picornaviridae*. Esse vírus está presente em áreas de suinocultura, e, além de suínos, o vírus pode acometer ovinos, camundongos e seres humanos. A sintomatologia é semelhante à da febre aftosa, do exantema vesicular suíno e da estomatite vesicular suína. Em suínos, os sinais clínicos são febre, lesões vesiculares, perda de peso, laminites e dificuldade de locomoção. As lesões vesiculares são observadas nos lábios, nas narinas, na língua, na pele, na borda coronária, nas laterais e nas áreas interdigitais do casco. O desenvolvimento das vesículas ocorre, aproximadamente, entre 2 e 11 dias após infecção (pico de viremia entre 2 e 4 dias após infecção e persiste até 7 dias). As lesões vesiculares são indistinguíveis às da febre aftosa, e podem passar a formar ulcerações, principalmente nas áreas do metatarso e metacarpo, e, em algumas situações, os cascos podem se desprender. No cérebro, observa-se encefalite difusa e agrupamentos de células da neuroglia. Infecções secundárias podem ocorrer. Não há tratamento, e as medidas de prevenção incluem a restrição de importação de regiões endêmicas. Não há vacinas disponíveis até o momento. Em países livres da doença, animais infectados são colocados em quarentena e sacrificados.

Diagnóstico laboratorial: Isolamento viral em células de cultivo; Fixação do complemento; ELISA de captura e Microscopia Eletrônica.

Raiva

O vírus da raiva está classificado no gênero *Lyssavirus* da família *Rhabdoviridae*. A raiva está presente em grande parte das regiões do mundo, com exceção das Ilhas Britânicas, Japão, Austrália, Escandinávia e Nova Zelândia. O vírus acomete mamíferos. Várias espécies animais são importantes reservatórios da doença, como morcegos, coiotes, raposas, gambás, quatis e lobos. O vírus da raiva é neurotrópico, afeta o sistema nervoso central de animais mamíferos e seres humanos. Ele é introduzido pelas terminações nervosas periféricas e pode atingir o sistema nervoso central pelo fluxo axoplásmico retrógrado. Os primeiros sinais clínicos são observados após a lesão neural, que é causada pela replicação da partícula vírica. Assim, dissemina-se, infectando vários tecidos, mesmo os não-nervosos, como as glândulas salivares. A presença do agente viral na saliva favorece a sua transmissão. O período de incubação varia de 2 a 3 semanas até 6 meses. O quadro clínico é caracterizado em três fases: fase prodrômica (os

animais ficam confusos e desorientados), fase furiosa (aumento de agressividade e hiperexcitabilidade, tendência de morder) e fase silenciosa (dificuldade de deglutição, fraqueza, salivação profusa e mandíbula caída). Em cães, o período de incubação pode ir de 3 a 8 dias. Os sinais clínicos apresentam salivação profusa, associada à espuma, convulsões, dificuldade de engolir alimentos e água, ausência de coordenação motora, paralisia dos músculos faríngeos e da mandíbula inferior. Em gatos, os sinais clínicos são semelhantes aos dos cães. No caso de equinos, a sintomatologia é semelhante aos achados clínicos de equinos acometidos por tétano, que apresentam dificuldade de engolir, ataxia e paralisia muscular. Em bovinos, é observada ausência de rinação, salivação, engasgos, tenesmo e paralisia dos membros anteriores. Experimentalmente, em roedores, o vírus é encontrado na medula espinhal entre 24 e 72 horas após incubação, e entre 96 e 192 horas no cérebro. O vírus também pode alcançar o sistema nervoso central, a partir das glândulas salivares, tonsilas e córneas. O animal em estado nervoso desenvolverá sinais clínicos em, aproximadamente, uma semana seguido de morte. Animais e seres humanos vacinados, apresentam anticorpos neutralizantes a partir da terceira semana após aplicação. O diagnóstico clínico deve ser diferenciado de outras doenças que acometem o sistema nervoso central.

Diagnóstico laboratorial: Imunofluorescência; isolamento viral (saliva e tecido nervoso); exame histopatológico (demonstração de corpúsculo de Negri em neurônios); inoculação intracerebral de camundongos (desenvolve sinais clínicos em 17 dias).

Estomatite Vesicular

O vírus da estomatite vesicular está classificado no gênero *Vesiculovirus* da família *Rhabdoviridae*. Ele pode infectar suínos, equinos, bovinos, mulas, veados e seres humanos. A doença está presente na América do Sul, Central e do Norte. Geralmente, os surtos estão relacionados ao vírus da estomatite vesicular de Indiana e ao vírus da estomatite vesicular de New Jersey. Os animais infectados pelo vírus apresentam vesículas na mucosa da boca e da língua, nos tetos, na borda coronária e no espaço interdigital do casco. A sintomatologia é semelhante aos do exantema vesicular do suíno e da febre aftosa. A transmissão ocorre, principalmente, pelo contato direto, sendo a saliva uma importante fonte de contaminação. Insetos, como mosca dos estábulos, tabanídeos e mosquitos, são considerados vetores da doença. A infecção viral causa febre, erosões e as úlceras são observadas de 4 a 6 dias após a infecção. Em casos severos, pode ocorrer descamação da mucosa da língua, associada à salivação abundante e anorexia. No animal, o vírus é encontrado no líquido vesicular e na saliva, porém, não está presente no sangue. Não ocorre disseminação do vírus para outras regiões do corpo. A patologia da estomatite vesicular é caracterizada pelo desenvolvimento de vesículas na boca, nos cascos e nos tetos. Histologicamente, as lesões são caracterizadas por infiltração celular

inflamatória, edema intracelular e necrose das células epiteliais. O aparecimento e desaparecimento de lesões é variável, desaparecendo em uma semana e, em alguns casos, aparecendo entre 10 e 20 dias após as primeiras lesões. Não há tratamento para a doença. Na forma preventiva, estão disponíveis vacinas vivas atenuadas e inativadas.

Diagnóstico laboratorial: Isolamento do vírus; titulação de anticorpos pelo método ELISA; microscopia eletrônica; imunoeletrônica do líquido vesicular e coloração de anticorpos imunofluorescente.



Vocabulário

Virose: refere-se a doenças causadas por vírus.

Viremia: refere-se à presença do vírus no sangue.

Soropositivo: refere-se ao indivíduo que apresenta anticorpos específicos de um determinado agente.

Cinomose Canina

O vírus da cinomose canina está classificada no gênero *Morbillivirus*, da subfamília *Paramyxovirinae*, pertencente à família *Paramyxoviridae*. O vírus está presente em todo o mundo, infectando uma ampla variedade de animais como cães, raposas, lobos, coiotes, furões, martas, gambás, quatis e pandas. O cão é o principal reservatório do vírus e elimina o agente viral por secreções nasais, oculares, urina e fezes. A infecção pode desenvolver uma variedade de sinais clínicos (desde assintomáticos até sintomas graves), como febre bifásica, anorexia, desidratação, secreções nasais e oculares, depressão, diarreia, vômito, leucopenia, trombocitopenia, erupções cutâneas, hiperkeratose dos coxins dos membros e do focinho, espasmos musculares, sinais de envolvimento do sistema nervoso. Animais com baixa condição imunitária estão mais susceptíveis a complicações, que podem levar à morte. Dois dias após a infecção, é possível detectar o vírus em linfonodos bronquiais e tonsilas. Do sétimo ao nono dia, ocorre a disseminação viral para o sistema linfático, trato respiratório, trato gastrointestinal, sistema endócrino, sistema urogenital e dos coxins dos membros. A partir do nono dia, o vírus atinge as células endodimais, gigantes e neuronais. Alterações degenerativas, intracitoplasmáticas e corpúsculos de inclusão são observadas em células epiteliais. A infecção viral induz imunidade nos cães, produzindo anticorpos neutralizantes que permanecem, aproximadamente, por um ano. Não há tratamento específico para animais infectados. O tratamento é, basicamente, de suporte, com a utilização de antibióticos e anticonvulsivantes. Os animais que sobrevivem adquirem imunidade

contra o agente viral. A vacinação preventiva (vacinas vivas ou inativadas) é a medicação para controle da doença.

Diagnóstico laboratorial: ELISA; imunocromatográficos; isolamento e identificação do agente viral; e demonstração do antígeno viral com auxílio da técnica de imunofluorescência indireta ou peroxidase.

Doença de Newcastle

O vírus da doença de Newcastle, também conhecido como paramixovírus aviário 1, está classificado no gênero *Rubulavirus*, da subfamília *Paramyxovirinae*, pertencente à família *Paramyxoviridae*. A doença de Newcastle tem sido relatada no mundo inteiro. As aves domésticas são consideradas os maiores reservatórios do agente viral, porém, o vírus tem sido isolado em perus, patos, gansos, pardais e corvos. A transmissão ocorre por aerossóis em contato com trato respiratório da ave. A doença é altamente infecciosa e caracterizada pela dificuldade respiratória, diarreia e sinais neurológicos. Seu período de incubação varia entre quatro e onze dias. As aves infectadas começam a liberar o vírus a partir do segundo para o terceiro dia. De acordo com a virulência da cepa (velogênicas, mesogênicas e lentogênicas), as aves produzem sintomatologia diferente. As cepas velogênicas causam uma infecção rápida e fatal, que envolve os órgãos viscerais (Doyle) e o sistema nervoso central (Beach). As cepas mesogênicas causam sintomas respiratórios e, às vezes, neurológicos (Beaudette). As cepas lentogênicas causam uma doença branda ou inaparente (Hitchner). Em aves que apresentam a forma mais grave da doença, observa-se necrose hemorrágica no trato respiratório, intestinal e nos órgãos viscerais. Em aves que apresentam sintomas neurológicos, são observados necrose das células gliais, hipertrofia das células endoteliais e degeneração neuronal. O hospedeiro pode desenvolver anticorpos a partir do sexto ao décimo dia, auxiliando contra o agente viral. O tratamento é preventivo, e envolve medidas como adotar um manejo sanitário adequado, evitar exposição de aves suscetíveis ao agente viral e vacinar as aves.

Diagnóstico laboratorial: isolamento e identificação do vírus; demonstração do antígeno com auxílio da imunofluorescência; demonstração de anticorpos com auxílio dos métodos ELISA, hemaglutinação ou neutralização.

Classificação viral II

Na classificação viral II, vamos abordar as principais características e agentes virais pertencentes às famílias *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Retroviridae* e *Coronaviridae*.

Família *Togaviridae*

Características dos agentes virais: vírus-RNA de fita simples, polaridade positiva e envelopados.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Vírus da encefalite equina do Leste; Vírus da encefalite equina do Oeste; Vírus da encefalite equina venezuelana; Vírus Highlands J.; Vírus Chikungunya; Vírus Semliki Forest e Getah.

Família *Flaviviridae*

Características dos agentes virais: vírus-RNA de fita simples, polaridade positiva, envelopados e replicam-se no citoplasma. Para a maioria dos Flavivirus, a transmissão é mediada por artrópodes.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Vírus da febre amarela; Vírus da doença de Wesselsbron; Vírus do oeste do Nilo; Vírus da encefalite japonesa; Vírus da encefalomielite ovina (mal-do-pulo); Vírus meningo-encefalite dos perus de Israel; Vírus da diarreia bovina tipo 1 e 2; Vírus da doença da fronteira e Vírus da peste suína clássica.

Família *Retroviridae*

Características dos agentes virais: vírus-RNA de fita simples linear, polaridade positiva e envelopados. O RNA viral é transcrito em DNA de fita dupla. O DNA de fita dupla é inserido no genoma da célula hospedeira.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Vírus da Leucose aviária; Retrovírus ovino (Jaagsiekte); Vírus da leucemia felina; Vírus da Leucose bovina; Vírus da imunodeficiência bovina; Vírus da anemia infecciosa equina; Vírus da imunodeficiência felina; Vírus da artrite-encefalite caprina e Vírus Maedi/Visna dos ovinos.

Família *Coronaviridae*

Características dos agentes virais: vírus-RNA de fita simples, polaridade positiva, envelopados e sua replicação ocorre no citoplasma.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Vírus da gastroenterite transmissível viral (TGEV); Coronavirus Respiratório Suíno (PRCoV); Vírus da diarreia epidêmica suína (PEDV); Vírus da peritonite infecciosa felina (FIPV); Coronavirus felino (FCoV); Coronavirus canino (CCoV); Coronavirus humano (HCoV-229E); Coronavirus bovino (BCoV); Coronavirus dos perus (TCoV); Coronavirus da hepatite do camundongo (MHV); Coronavirus humano (HCoV-OC43); Vírus da bronquite infecciosa das galinhas (IBV); Torovirus bovino (BToV); Vírus Breda (BRV); Torovirus equinos (EToV); Vírus Berne (BEV); Torovirus humano (HToV) e Torovirus suíno (PToV).



Exemplificando

A **vacina inativada ou morta** é caracterizada por um agente inativado, inviável e não-replicativo.

A **vacina atenuada ou viva modificada** é caracterizada por um agente viável, porém, com patogenicidade e virulência reduzidas.

A **vacina monovalente** contém antígenos de apenas um agente, enquanto que, a **vacina multivalente** contém antígenos de vários agentes.

Agora, vamos conhecer a distribuição geográfica, as espécies animais acometidas, a sintomatologia, as lesões, o tratamento e os métodos de diagnóstico de algumas doenças causadas por agentes virais da classe viral II. Vamos lá!

Diarreia Viral Bovina

O vírus da diarreia bovina está classificado no gênero *Pestivirus*, da família *Flaviviridae*. Sua distribuição é mundial e acomete, principalmente, bovinos (em todas as idades), porém ovinos, caprinos e suínos também são susceptíveis, além de serem considerados reservatórios do agente viral. Os vírus da diarreia bovina estão distribuídos em dois grupos, no grupo I, compreendem as cepas clássicas, e, no grupo II, compreendem as cepas altamente patogênicas. Animais infectados podem apresentar diarreia, anorexia, salivação intensa, depressão, desidratação, paralisação da ruminação, conjuntivite, ulcerações nas mucosas da cavidade oral, congestão, aborto e teratogênese. Em casos graves, os animais podem apresentar febre e leucopenia. Em situações que envolve uma infecção persistente, o agente viral pode desenvolver doença das mucosas. No grupo II de cepas altamente patogênicas, os animais infectados apresentam trombocitopenia intensa e hemorragia. Vacas prenhes, infectadas antes dos 180 dias de gestação, produzem bezerros infectados persistentemente e apresentam imunossupressão. O vírus é teratogênico, que pode resultar na morte do feto ou desenvolvimento de anomalias (deformidade do sistema nervoso central, lesões oculares e cerebelares congênitas). Bovinos que se recuperaram da infecção viral, adquirem imunidade. O tratamento é preventivo, com a aplicação de vacinas. Em bezerros, anticorpos colostrais persistem por 4 a 6 meses. Caso a vacinação seja inferior a 6 meses de idade, a revacinação deve ser realizada.

Diagnóstico laboratorial: Isolamento viral e imunofluorescência; soroneutralização com demonstração de anticorpos; reação em cadeia da polimerase (PCR). Diagnóstico diferencial para febre catarral maligna ou peste bovina e doenças com sintomatologias semelhantes.

Peste Suína Clássica

O vírus da peste suína clássica está classificado no gênero *Pestivirus*, da família *Flaviviridae*. É uma doença altamente contagiosa e sua distribuição é mundial. O vírus acomete suínos domésticos e silvestres. Parasitas pulmonares de suínos são reservatórios do agente viral. A transmissão pode ocorrer por aerossóis, fômites e ingestão de materiais contaminados, sendo que os animais infectados apresentam febre, anorexia, vômito, diarreia, descargas mucopurulentas nos olhos, ranger dos dentes, distúrbios locomotores, paralisia local e, às vezes, convulsões. Normalmente, os animais ficam em estado de depressão e sonolência. Matrizes infectadas acarretam em leitões reduzidos, partos prematuros, natimortos, tremores e ataxia cerebelar. O vírus possui afinidade para tecidos hematopoiéticos e vasculares, causando degeneração de vasos sanguíneos, o que resulta em focos de hemorragia, necrose e enfartamento de órgãos internos. Observa-se, ainda, a presença de linfonodos aumentados e petéquias hemorrágicas na superfície serosa. Uma infecção secundária pode ocorrer, causando pneumonia e enterite ulcerativa. Animais que se recuperam da infecção viral, adquirem imunidade duradoura. O tratamento é preventivo, com aplicação de vacinas que persistem por apenas oito meses, isso quando são aplicadas várias doses.

Diagnóstico laboratorial: Isolamento viral; imunofluorescência direta; testes sorológicos; testes de neutralização e ELISA.

Anemia Infeciosa Equina

O vírus da anemia infecciosa equina está classificado no gênero *Lentivirus*, da subfamília *Orthoretrovirinae*, da família *Retroviridae*. A doença está distribuída mundialmente, com incidência principalmente em países de clima quente. O vírus acomete equinos, pôneis, asininos e muares. O agente viral pode ser transmitido por insetos hematófagos (o vírus não se replica nos insetos), por fômites (agulhas contaminadas), e para o potro, pela lactação. A sintomatologia é caracterizada por febre, anemia, anorexia, trombocitopenia, sudorese profusa e secreção no focinho durante 3 a 5 dias. Na doença subaguda, observa-se fraqueza, depressão do sistema nervoso central, apatia, anemia, edema, petéquias e ataxia. Na forma crônica, a anemia infecciosa equina é denominada de "febre do pântano", os sintomas são semelhantes aos da apresentação subaguda, porém, mais brandos e dificilmente leva à morte do animal. Os equinos podem carrear o vírus sem apresentar sintomas. O desencadeamento dos sintomas pode ocorrer após o animal passar por algum tipo de estresse, ou com a utilização de drogas imunossupressoras. A replicação do vírus resulta em hemólise das hemácias e eritrofagocitose, causada por macrófagos, o que desencadeia a anemia. Também se observa comprometimento do metabolismo do ferro. Lesões como hemorragia, edema e degeneração são observadas em vários órgãos, além de necrose de tecidos linfáticos. Não há tratamento específico, recomenda-se a terapia de suporte.

Animais infectados (qualquer equino ou pertencente à família equidae) devem ser isolados e sacrificados. Potros podem nascer ausentes do agente viral, porém devem ser isolados da égua infectada e do aleitamento materno (transmitido pelo leite). Não são utilizadas vacinas para o controle da doença.

Diagnóstico laboratorial: Teste sorológico – imunodifusão em gel de ágar; ELISA; reação em cadeia da polimerase (PCR); potros com até 6 meses de idade podem apresentar resultados falso-positivo.

Classificação viral III

Na classificação viral III, vamos abordar as principais características e agentes virais das famílias *Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Papillomaviridae*, *Poxviridae* e *Parvoviridae*.

Família *Herpesviridae*

Características dos agentes virais: vírus-DNA de fita dupla, simetria icosaédrica, envelopados e replicam-se no núcleo. Causam doenças no sistema respiratório, reprodutivo e nervoso.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1); Herpesvirus bovino tipo 2 (BoHV-2); Herpesvirus bovino tipo 5 (BoHV-5); Herpesvirus canino tipo 1 (CaHV-1); Herpesvirus caprino tipo 1 (CpHV-1); Herpesvirus equino tipo 1 (EHV-1); Herpesvirus equino tipo 3 (EHV-3); Herpesvirus equino tipo 4 (EHV-4); Herpesvirus felino tipo 1 (FeHV-1); Herpesvirus suíno tipo 1 (SuHV-1); Herpesvirus galídeo tipo 2 (GaHV-2); Herpesvirus galídeo tipo 3 (GaHV-3); Herpesvirus galídeo tipo 1 (GaHV-1); Herpesvirus alcelaphine tipo 1 (AlHV-1); Herpesvirus bovino tipo 4 (BoHV-4); Herpesvirus ovino tipo 2 (OvHV-2); Herpesvirus ovino tipo 1 (OvHV-1) e Herpesvirus suíno tipo 2 (SuHV-2).

Família *Adenoviridae*

Características dos agentes virais: vírus-DNA de fita dupla, simetria icosaédrica, não-envelopados e replicam-se no núcleo. Desenvolvimento de corpúsculos de inclusão intracelulares.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Adenovírus bovino (BAdV-A, BAdV-B e BAdV-C); Adenovírus canino (CAdV-1 e CAdV-2); Adenovírus equino (EAdV-A e EAdV-B); Adenovírus ovino (OAdV-A, OAdV-B e OAdV-C); Adenovírus suíno (PAdV-A, PAdV-B e PAdV-C); Adenovírus caprino (GAdV-A); Adenovírus aviário (FAdV-A, FAdV-B, FAdV-C, FAdV-D e FAdV-E); Adenovírus de Gansos (GoAdV); Adenovírus bovino (BAdV-D e BAdV-E); Adenovírus de patos A (DAdV-A); Adenovírus ovino D (OAV-D) e Adenovírus de perus A (TAdV-A).

Família *Papillomaviridae*

Características dos agentes virais: vírus-DNA de fita dupla circular, simetria icosaédrica, não possuem envelope e a replicação ocorre no núcleo. Causa papilomas e fibropapilomas em animais domésticos.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Papilomavirus do alce europeu; Papilomavirus do cervo; Papilomavirus ovino 1; Papilomavirus bovino 1 e 2; Papilomavirus bovino 5; Papilomavirus equino 1; Papilomavirus do Chaffinch; Papilomavirus dos papagaios; Papilomavirus do coelhos cauda-de-algodão; Papilomavirus oral dos coelhos; Papilomavirus oral canino; Papilomavirus felino; Papilomavirus bovino 3 e Papilomavirus oral dos hamsters.

Família *Poxviridae*

Características dos agentes virais: vírus-DNA, envelopados, simetria complexa e replicam-se no citoplasma. Caracterizado por lesões na pele dos animais infectados.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Vírus da vaccínia; Vírus da varíola bovina; Vírus da varíola dos camelos; Vírus Uasin Gishu; Vírus da varíola dos macacos; Vírus da ectromelia; Vírus da varíola dos ovinos; Vírus da varíola dos caprinos; Vírus da doença da pele nodulosa; Vírus da varíola dos suínos; Vírus da varíola (bouba) aviária; Vírus do mixoma; Vírus do *molluscum contagiosum*; Vírus yabapox e vírus tanpox; Vírus da pseudo-varíola bovina; Vírus da estomatite papular bovina; Vírus orf (ectima contagioso); Vírus Ausdik e Parapoxvírus das baleias.



Pesquise mais

Leia o artigo *Ectima contagioso em ovinos e caprinos no semi-árido da Paraíba*.

Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v28n3/02.pdf>>. Acesso em: 19 jun. 2016.

Família *Parvoviridae*

Características dos agentes virais: vírus-DNA de fita dupla simples, não-envelopados, simetria icosaédrica e a replicação ocorre no núcleo celular. Caracterizado por lesões na pele em animais infectados.

Principais agentes virais de interesse veterinário: Parvovirus de galinha (CHPV); Vírus da panleucopenia felina (FPLV); Parvovirus canino (CPV); Vírus da enterite das martas (MEV); Parvovirus dos mãos-peladas (RPV); Vírus minuto dos camundongos (MMV ou MVM); Parvovirus suíno (PPV); Parvovirus de gansos (GPV); Parvovirus de patos Muscovy (MDPV); Parvovirus bovino (BPV); Vírus minuto canino (CNMV) e Aleutian mink disease virus (AMDV).

Agora, vamos conhecer a distribuição geográfica, as espécies animais acometidas, a sintomatologia, as lesões, o tratamento e os métodos de diagnóstico de algumas doenças causadas por agentes virais da classe viral III.

Panleucopenia Felina

O vírus da panleucopenia felina está classificado no gênero *parvovirus*, da subfamília *Parvovirinae*, pertencente à família *Parvoviridae*. Doença altamente contagiosa, com incidência mundial, acomete principalmente gatos, porém pode infectar outros animais pertencentes à família *Felidae*. A infecção pode ocorrer por via oral ou respiratória. O período de incubação é de aproximadamente 4 dias. Os sintomas são caracterizados por febre, depressão, anorexia, vômito, morte neonatal, anormalidades congênitas no sistema nervoso central (ataxia cerebelar), quadro clínico que pode levar à morte do animal. A viremia permanece de 1 a 7 dias após infecção do animal. Na urina, o agente viral é encontrado entre o segundo ao vigésimo segundo dia após a infecção. Enquanto que, nas fezes, o vírus está presente após o vigésimo segundo dia. Lesões macro e microscópicas são observadas no intestino (edema, dilatação, necrose do epitélio das criptas intestinais) e no timo (redução do tamanho). Animais infectados produzem anticorpos após seis a sete dias da infecção, os quais podem persistir por anos. Não há tratamento específico e eficaz. Na forma preventiva, vacinas estão disponíveis comercialmente.

Diagnóstico laboratorial: detecção de antígenos virais pelos métodos ELISA ou hemaglutinação; corpúsculos de inclusão podem ser observados nas células das criptas.

Parvovirose Canina

O parvovirus canino está classificado no gênero *parvovirus*, da subfamília *Parvovirinae*, pertencente à família *Parvoviridae*. A doença está distribuída mundialmente. O vírus infecta cães e membros da família *Canidae* (ex. lobos, raposas, coiotes, cães do mato). A transmissão ocorre por meio de alimentos e da água, os quais foram contaminados com fezes. A doença é caracterizada por vômito, diarreia, anorexia, febre, depressão, desidratação e linfopenia. Os locais de replicação viral são: timo, tonsilas, linfonodos mesentéricos, retrofaríngeos e baço. A disseminação do agente viral ocorre a partir do sexto dia e sua excreção é detectável a partir do terceiro dia, com pico no sétimo dia. Lesões são observadas, principalmente, no jejuno e no íleo na forma de doença entérica grave. No intestino delgado, pode-se observar atrofia das vilosidades do epitélio e necrose de criptas epiteliais. Cães infectados pelo vírus podem desenvolver anticorpos de longa duração, que podem persistir por até 24 meses. O tratamento baseia-se na reposição de líquidos corpóreos, correção eletrolítica e redução da acidose. Na forma preventiva, a desinfecção do ambiente deve ser estabelecida e associada com a vacinação dos animais (vacinas inativadas requerem reforço entre 2 e 3 semanas).

Diagnóstico laboratorial: Demonstração do vírus ou antígenos nas fezes utilizando microscopia eletrônica; ensaio imunoenzimático ELISA, hemaglutinação ou neutralização viral.

Sem medo de errar

Mediante os conteúdos abordados nesta seção, vamos resolver as questões da situação-problema. Vamos lá!

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os principais pontos da situação-problema. Recentemente, o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário recebeu amostras para diagnóstico laboratorial. O médico veterinário encaminhou um laudo técnico anexo às amostras, contendo poucas informações do atendimento clínico e indicando a suspeita de um agente viral da anemia infecciosa equina. De acordo com o laudo técnico, as amostras foram coletadas de um equino, com aproximadamente três anos de idade. O técnico procedeu com a análise do material biológico, utilizando a técnica de imunodifusão em gel de ágar (Teste de Coggins). Mediante as informações apresentadas, e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, vamos responder às questões do caso clínico:

- Quais as espécies animais que o agente viral pode acometer?

O vírus acomete equinos, pôneis, asininos e muare.

- Descreva a sintomatologia da Anemia Infecciosa Equina.

A sintomatologia é caracterizada por febre, anemia, anorexia, trombocitopenia, sudorese profusa e secreção no focinho, durante 3 a 5 dias. Na doença subaguda, observa-se fraqueza, depressão do sistema nervoso central, apatia, anemia, edema, petéquias e ataxia. Na forma crônica, a anemia infecciosa equina é denominada como "febre do pântano", os sintomas são semelhantes aos da apresentação subaguda, porém, são mais brandos e dificilmente levam à morte do animal. Os equinos podem carrear o vírus sem apresentar sintomas. O desencadeamento dos sintomas pode ocorrer após o animal passar por algum tipo de estresse, ou com a utilização de drogas imunossupressoras.

- Descreva a lesão que ocorre nos componentes do sangue que desencadeia a anemia nos animais infectados.

A replicação do vírus resulta em hemólise das hemácias e eritrofagocitose, causada por macrófagos, o que desencadeia a anemia. Também se observa comprometimento do metabolismo do ferro.



Faça você mesmo

Pesquise mais sobre as doenças dos agentes virais que não foram abordados nesta seção e que pertencem à classificação I, II e III. Utilize o material de apoio: QUINN, P. J. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: EGK, 2003.

Avançando na prática

Panleucopenia Felina

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário atendeu um proprietário de um gato, que solicitava um exame laboratorial para diagnóstico de um agente viral. De acordo com o proprietário, o seu animal já havia sido atendido por um médico veterinário autônomo, o qual recomendou um tratamento de suporte por determinado período. O veterinário suspeitou de um agente viral, porém, ele não realizava exames laboratoriais para determinar um diagnóstico definitivo. Então, o veterinário plantonista da clínica procedeu com o atendimento, constatando febre, vômito e depressão. Durante o atendimento clínico, o animal teve vômito. Suspeitando de uma agente viral, o veterinário procedeu com a coleta do conteúdo do vômito, sangue e fezes do animal para a realização do teste de diagnóstico.

Descrição da situação-problema

Em continuidade com o relato de caso, o técnico laboratorial recebeu o material biológico para a realização do teste de diagnóstico. O veterinário indicou o teste imunocromatográfico para detecção do agente viral da panleucopenia felina (FPLV). O exame laboratorial evidenciou resultado positivo para o vírus. Para compreender melhor o caso clínico, e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às seguintes questões:

- Qual o período de viremia do agente viral e o tempo para a sua detecção na urina e nas fezes do animal infectado?
- Quais as lesões (macro e microscópicas) observadas no intestino de animais infectados pelo agente viral em questão?

Resolução da situação-problema

- Qual o período de viremia do agente viral e o tempo para a sua detecção na urina e nas fezes do animal infectado?

A viremia permanece de 1 a 7 dias após infecção do animal. Na urina, o agente viral é encontrado entre o segundo e o vigésimo segundo dia após a infecção, enquanto que nas fezes o vírus está presente após o vigésimo segundo dia.

- Quais as lesões (macro e microscópicas) observadas no intestino de animais infectados pelo agente viral em questão?

As lesões macro e microscópicas são observadas no intestino (edema, dilatação, necrose do epitélio das criptas intestinais) e no timo (redução do tamanho).



Lembre-se

O vírus da panleucopenia felina é um vírus-DNA de fita dupla simples, não-envelopado, de simetria icosaédrica e a replicação ocorre no núcleo celular.

Faça valer a pena

1. A febre aftosa é causada por um agente viral pertencente ao gênero *Aphthovirus*, da família *Picornaviridae*. Com relação à febre aftosa, é correto afirmar:

I. A febre aftosa é endêmica e está presente no continente africano, na América do Sul, na Ásia e em algumas regiões da Europa.

II. Na América do Sul, estão presentes os sorotipos Ásia1, O, A e C.

III. Na África, estão presentes os sorotipos SAT1, 2, 3, A, O e C.

IV. Na Ásia, estão presentes os sorotipos A, O, C e SAT1.

V. O vírus acomete espécies animais de casco biungulados, como bovinos, bubalinos ovinos, caprinos, suínos, ruminantes silvestres.

Assinale a alternativa correta:

- Somente as afirmativas I, II e IV são corretas.
- Somente as afirmativas I, III e V são corretas.
- Somente as afirmativas II, III e IV são corretas.
- Somente as afirmativas III, IV e V são corretas.
- Somente as afirmativas II, IV e V são corretas.

2. O agente viral "vírus da doença vesicular dos suínos" pertence ao gênero _____, da família _____. Esse vírus está

presente em áreas de suinocultura, e, além de suínos, o vírus pode acometer ovinos, camundongos e seres humanos. A sintomatologia é semelhante à da _____, do _____ e da _____.

Assinale a afirmativa que completa a sequência correta das lacunas:

- a) *Enterovirus, Picornaviridae*, coronavírus respiratório suíno, exantema vesicular suíno e estomatite vesicular suína.
- b) *Enterovirus, Picornaviridae*, febre aftosa, coronavírus respiratório suíno, exantema vesicular suíno e estomatite vesicular suína e peste suína clássica.
- c) *Enterovirus, Picornaviridae*, febre aftosa, exantema vesicular suíno e adenovírus suíno.
- d) *Enterovirus, Picornaviridae*, febre aftosa, coronavírus respiratório suíno, exantema vesicular suíno e estomatite vesicular suíno e estomatite vesicular suína.
- e) *Enterovirus, Picornaviridae*, febre aftosa, exantema vesicular suíno e estomatite vesicular suína.

3. O vírus da raiva está classificado no gênero *Lyssavirus*, da família *Rhabdoviridae*. Os primeiros sinais clínicos são observados após a lesão neural, a qual é causada pela replicação da partícula vírica. O quadro clínico é caracterizado em três fases: _____ (os animais ficam confusos e desorientados), _____ (aumento de agressividade e hiperexcitabilidade, tendência de morder) e _____ (dificuldade de deglutição, fraqueza, salivação profusa e mandíbula caída).

Assinale a afirmativa que completa a sequência correta das lacunas:

- a) Fase prodrômica, fase furiosa e fase silenciosa.
- b) Fase furiosa, fase prodrômica e fase silenciosa.
- c) Fase prodrômica, fase silenciosa e fase furiosa.
- d) Fase aguda, fase prodrômica e fase silenciosa.
- e) Fase silenciosa, fase prodrômica e fase furiosa.

Referências

- ALMEIDA, M. S. et al. Visualização de Inclusão Viral em Hemácias – Relato de caso. In. **IX Jornada de ensino, pesquisa e extensão**. Pernambuco: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009.
- BERSANO, J. G.; VILLALOBOS, E. M. C.; BATLOUNI, S. R. Pesquisa do vírus da peste suína clássica em suínos sadios abatidos em matadouros no estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 9-12, 2001.
- DE ALMEIDA, S. **Ciências farmacêuticas: micologia**. Rio de Janeiro: EGK, 2008.
- ENGELKIRK, P. G. B. **Microbiologia para as ciências da saúde**. 9. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2012.
- FLORES, E. F. **Virologia veterinária: virologia geral e doenças víricas**. 2. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2012. 1008 p.
- GREENE, C. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4. ed. São Paulo: Roca, 2015.
- HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: EGK, 2003.
- JAPOLLA, G. et al. Teste imunocromatográfico de fluxo lateral: uma ferramenta rápida de diagnóstico. **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v.11, n.22, p.232, 2015.
- LYRA, T. M. P.; SILVA, J. A. The foot-and-mouth disease in Brazil, 1960-2002. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 5, p. 565-576, 2004.
- MADIGAN, M. T. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 1160 p.
- MEINERZ, A. R. M. et al. Frequência do vírus da leucemia felina (FeLV) em felinos domésticos (*Felis catus*) semidomiciliados nos municípios de Pelotas e Rio Grande. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 90-93, 2010.
- PANDEY, R. **Microbiologia veterinária: perspectivas clínicas e moleculares**. São Paulo: Roca, 1994.
- PLAYFAIR, J.; CHAIN, B. M. **Imunologia básica: guia ilustrado de conceitos fundamentais**. São Paulo: Manole, 2013. 112 p.
- QUINN, P. F. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed. 2005.

SANTOS, N. S. **Virologia humana**. 3. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2015.

ZAITS, C. **Compêndio de micologia médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2010.

Bacteriologia especial aplicada à medicina veterinária

Convite ao estudo

Olá, aluno! Seja bem-vindo à Unidade 3 deste livro didático!

Animais de companhia e de produção estão sujeitos a infecções causadas por bactérias que desencadeiam enfermidades, interferem no bem-estar do animal e causam perdas econômicas. Portanto, em uma sociedade cada vez mais exigente, conhecer as principais bactérias que causam doenças nos animais é de fundamental importância para o médico veterinário, bem como aplicá-los na prevenção, controle e tratamento das doenças infecciosas.

Competência geral

Conhecer os principais microrganismos de interesse em medicina veterinária (bactérias, fungos e vírus), enfocando particularmente a taxonomia, características morfológicas, ecológicas, de sensibilidade, resistência e identificação laboratorial.

Competência técnica

Conhecer e compreender as particularidades das bactérias e processos infecciosos de importância clínica para a medicina veterinária.

Objetivos

Você deverá:

- Conhecer a morfologia das bactérias.
- Conhecer o procedimento de identificação das bactérias.
- Conhecer os agentes na classificação das bactérias I (Família *Enterobacteriaceae*).
- Conhecer os agentes na classificação das bactérias II (Gêneros *Bacillus*, *Burkholderia* e *Borrelia*).

- Conhecer os agentes na classificação das bactérias III (Gêneros das bactérias: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Clostridium*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Leptospira*, *Brucela*, *Pasteurela* e *Pseudomonas*).

Para auxiliar o conteúdo das competências que serão atribuídas nesta unidade, vamos apresentar uma Situação da Realidade Profissional de um atendimento clínico realizado por um médico veterinário. Nesta situação, aproximaremos os conteúdos teóricos com a prática proposta nesta unidade. Leia com atenção:

O laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário recebe diariamente vários materiais biológicos para serem analisados. O técnico laboratorial relata que a maioria das amostras que chegam ao laboratório estão em condições adequadas (identificadas e armazenadas). Ele ressalta que, desde a eleição do material biológico a ser coletado no campo (materiais esterilizados), seu acondicionamento em frascos adequados, método de conservação adotado para o transporte das amostras até a chegada no laboratório, possui grande relevância para obter bons resultados durante a análise laboratorial. De acordo com o técnico, a demonstração de agentes bacterianos é mediada por técnicas de cultivo, coloração de esfregaços, métodos moleculares e imunológicos. Mediante a prestação de serviços do laboratório vamos acompanhar diferentes análises laboratoriais e seus respectivos casos clínicos.

Vamos começar os estudos?

Boa sorte!

Seção 3.1

Morfologia e identificação das bactérias

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos a morfologia e os procedimentos para identificação das bactérias. Para melhor compreender o conteúdo abordado, vamos acrescentar informações na situação-problema referentes ao relato de caso apresentado no item *Convite ao estudo*, dessa forma, você participará indiretamente na resolução do caso.

Recentemente, o professor da disciplina de microbiologia se direcionou ao laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário com os alunos para realizar uma aula prática, na qual os alunos realizaram a técnica de coloração de Gram (conteúdo aprendido em aula teórica). O técnico laboratorial preparou as colônias bacterianas para serem utilizadas a partir da técnica de cultivo em meio de ágar sangue na qual amostras de secreções foram coletadas de animais que estavam sendo atendidos no Hospital Veterinário e que apresentavam um quadro clínico de infecção na pele. Com objetivo de identificar e diferenciar uma bactéria Gram-positiva de uma Gram-negativa, os alunos procederam com a técnica e interpretação dos resultados.

Mediante as informações apresentadas na situação e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Com relação às bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas, cite as principais estruturas (externas e internas) e componentes importantes que estão presentes nesses microrganismos.
- Cite as principais diferenças entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.
- Cite as quatro etapas da técnica de coloração Gram.

Não pode faltar

Prezado aluno, nesta seção começaremos a estudar a morfologia e os procedimentos para identificação das bactérias. Vamos lá!

Introdução a bacteriologia

Em 1673, Anton van Leeuwenhoek observou pela primeira vez microrganismos vivos, sendo considerado o pai da Bacteriologia e da Protozoologia. Leeuwenhoek polia pequenas lentes de vidro e as fixava em estruturas metálicas, o que possibilitou ampliar um objeto de 200 a 300 vezes. Ele relatava suas observações em cartas, descrevendo a presença de uma ampla variedade de criaturas vivas em diferentes materiais observados. A associação desses microrganismos com doenças infecciosas foi descrita nos trabalhos de Louis Pasteur e Robert Koch, no final do século XIX. Durante dois séculos de estudos, os pesquisadores Louis Pasteur e John Tyndall comprovaram que a vida só pode surgir a partir de vida preexistente (teoria denominada de biogênese). Louis Pasteur contribuiu significativamente para o desenvolvimento da microbiologia. Ele identificou formas de vida que se desenvolviam em ambiente ausente de oxigênio, classificando os microrganismos dependentes de oxigênio como "aeróbios" e os microrganismos não dependentes como "anaeróbios". Em 1884, Robert Koch e colaboradores publicaram um procedimento experimental para comprovar que um determinado microrganismo é a causa de uma doença infecciosa específica. Esse procedimento ficou conhecido como Postulados de Koch, o qual é utilizado até os dias de hoje.



Refleta

É importante ressaltar que nem todas as doenças são causadas por microrganismos.

Morfologia e arranjo bacteriano

As bactérias são microrganismos microscópicos que variam de 0,2 a 2,0 μ m de diâmetro por 2 a 8 μ m de comprimento. As bactérias têm duas formas básicas: cocos (esféricos) e bacilos (formato de bastão e de espiral). Os arranjos dos cocos podem ser descritos em diplococos, estreptococos, tétrades, sarcinas e estafilococos. Já os bacilos têm bacilo isolado, diplobacilos, estreptobacilos e cocobacilos. As bactérias que apresentam formato de bastões curvos são denominadas de vibriões, as que apresentam forma helicoidal são denominadas de espirilos (movem-se com auxílio de filamentos axiais) e as que apresentam formato helicoidal e flexível são denominadas de espiroqueta.

As bactérias possuem estruturas externas, como glicocálice, flagelos, filamentos

axiais, fimbrias e *pili*. O glicocálice é um componente importante para auxiliar as bactérias a se fixarem no ambiente-alvo ou umas com as outras, que são constituídas de polissacarídeos e polipeptídios, formando uma superfície constituída de cápsula. Os flagelos têm uma estrutura helicoidal semirrígida que auxilia a célula a se mover de acordo com a rotação (sentido horário ou anti-horário) do corpo basal. Os flagelos podem ser peritríqueos (presentes em toda a célula) ou polares (presentes nos polos das células). Quando polar, eles podem ser classificados como nonotríqueo (presença de apenas um único flagelo), lofotríqueo (presença de vários flagelos) ou anfitríqueo (presença de flagelos em ambas extremidades). Os flagelos são constituídos de três componentes básicos: filamento (constituído pela proteína globular flagelina), gancho (porção ligeiramente mais espessa sobre a base do filamento) e corpo basal (ancora o flagelo à parede celular e à membrana plasmática). As bactérias que não têm flagelo são denominadas de atríqueas. Os filamentos axiais ou endoflagelos auxiliam as bactérias a se deslocarem. As fimbrias e *pili* são apêndices (semelhantes a pelos) menores que os flagelos. Os apêndices são constituídos por uma proteína denominada de *pilina*, cuja função é auxiliar na fixação e transferência de DNA (ácido desoxirribonucleico) e na constituição dos biofilmes. Em relação ao *pili*, estas estruturas são mais longas que as fimbrias e a célula bacteriana apresenta apenas uma ou duas unidades por célula bacteriana.

A parede celular das bactérias (Gram-positivas e Gram-negativas) é constituída por uma camada de peptideoglicanos, denominada de mureína, com a função de conferir proteção à célula. Estes peptideoglicanos são constituídos por dissacarídeos (monossacarídeos: N-actilglicosamina e ácido N-acetilmurâmico), que estão ligados por polipeptídeos. Porém, existem diferenças entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Bactérias Gram-positivas coram-se de violeta-escuro ou púrpura na técnica de coloração de Gram; possuem várias camadas de peptideoglicana; estão presente nos ácidos teicoicos; são ausentes de espaço periplasmático e membrana externa; não contêm conteúdo lipopolissacarídeo; o conteúdo de lipídeos é baixo; possuem dois anéis no corpo basal; produzem exotoxinas; possuem alta resistência à ruptura física e alta resistência ao ressecamento. Já as bactérias Gram-negativas coram-se de rosa ou vermelho na técnica de coloração de Gram; possuem uma fina camada de peptideoglicana; ausência do ácido teicoico; possuem espaço periplasmático e membrana externa; possuem alto conteúdo lipopolissacarídeo, lipídeos e lipoproteínas; possuem quatro anéis no corpo basal; produzem endotoxinas e exotoxinas; possuem baixa resistência à ruptura física e ao ressecamento.

Entre essas estruturas internas estão a membrana plasmática, o citoplasma, o nucleóide, os ribossomos e outras estruturas, que desempenham papel importante para a sobrevivência da bactéria. A membrana plasmática está presente no interior da parede celular, que reveste o citoplasma. Sua constituição é basicamente de fosfolipídios e proteínas. O citoplasma está presente no interior

da membrana plasmática e é constituído por, aproximadamente, 80% de água e outros componentes, como proteínas enzimáticas, lípidos, carboidratos e íons inorgânicos. No seu interior consta uma área nuclear, ribossomos e depósitos de reserva, denominados de inclusões. No nucleóide está presente a molécula de DNA (fita dupla, contínua e arranjada de forma circular), denominado de cromossomo bacteriano. O cromossomo carrega toda informação genética da célula bacteriana, bem como suas funções celulares. Os ribossomos funcionam como locais de síntese proteica e estão presentes no citoplasma da célula bacteriana (procariótica). Os ribossomos contêm duas subunidades de RNA, denominado de RNA ribossômico.

Os endósporos são células desidratadas (ocorre principalmente nas bactérias Gram-positivas) com paredes espessas para sobreviver em exposição de alta temperatura, falta de água, radiação e substâncias químicas. Seu processo de formação se origina com a escassez de nutrientes, sendo denominado de esporulação ou esporogênese.



Assimile

Altamente desidratados, os endósporos podem permanecer dormentes por milhares de anos, os quais voltam à atividade biológica (denominada de germinação) sob um processo de lesão física ou química sobre a capa de proteína, assim, permite penetração da água e o metabolismo se inicia.

Características tintoriais e bioquímicas das bactérias

A visualização de microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos é realizada com auxílio de técnicas de coloração. Anterior ao processo de coloração, os microrganismos devem ser fixados em uma lâmina de microscópio. A coloração de bactérias se baseia em dois tipos de corantes, os quais estão classificados como ácidos e básicos. A diferença entre eles é a presença de íons positivos (corantes básicos) e íons negativos (corantes ácidos). Dentre os corantes básicos e ácidos estão o cristal violeta, o verde de malaquita, a safranina e o azul de metileno. Dentre as técnicas de coloração estão a coloração álcool-ácido resistente (corar as células que não são álcool-ácidas); coloração negativa para cápsulas; coloração para endósporos (técnica de *Schaeffer-Fulton*) e coloração de flagelos (utiliza-se um mordente com o corante carbolfucsina).

Técnica de coloração de Gram

Essa técnica é aplicada em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O procedimento compreende quatro etapas: a) o esfregaço é fixado com auxílio

de calor ou substância química, em seguida, é submetido em um corante básico (corante de violeta); b) espera-se um curto período de tempo (1 minuto) para, depois, lavar o esfregaço com água e aplicar o lugol (mordente). Após a adição do lugol, as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas aparecem coradas na cor púrpura ou violeta escuro; c) em seguida, lava-se com água e, posteriormente, adiciona-se álcool ou álcool-acetona, o qual irá remover a coloração púrpura de algumas espécies bacterianas; d) então, o esfregaço é lavado com água para retirada do álcool. Por fim, o esfregaço é submetido ao corante de safranina (cor vermelha), lavado com água e seco ao ar, para posterior análise no microscópio.

Ambas as bactérias (Gram-positivas e Gram-negativas) retêm o corante cristal de violeta e lugol, os quais vão gerar uma cor violeta escuro ou púrpura. Com a aplicação do álcool na etapa subsequente, as estruturas que permanecem com a cor violeta escuro ou púrpura são classificadas como Gram-positivas e as que perdem a cor são classificadas como Gram-negativas. Assim, a aplicação do corante safranina irá corar a bactérias Gram-negativas de rosa. As bactérias Gram-positivas não são afetadas pelo corante safranina, em função de estarem com corante púrpura e iodo.



Exemplificando

Essa diferenciação de coloração das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas está relacionada à parede celular de peptidoglicano (Gram-positivas possuem parede mais espessa) e à presença de uma camada de lipopolissacarídeo (presente em bactérias Gram-negativas).

Fatores de virulência bacteriana

A virulência bacteriana está relacionada com a sua habilidade de invadir e produzir a doença no hospedeiro. A infecção por bactérias pode ocorrer de forma exógena (transmissão direta ou indireta a partir de um animal ou do ambiente) ou endógena (desencadeado em animais sob estresse). As vias de infecção no hospedeiro podem ocorrer pelo tecido epitelial (pele), pelas membranas mucosas (que revestem a conjuntiva, o trato gastrointestinal, urogenital e respiratório), pelo umbigo e canal da mama. Sendo que o trato gastrointestinal e respiratório são as principais portas de entrada.



Exemplificando

Um ponto determinante para que ocorra a infecção é o número de bactérias invasoras, o qual é determinante no desenvolvimento da doença. A virulência de um microrganismo pode ser expressa como DI50 (dose infectante para 50% de uma amostra de uma população).

Colonização e crescimento

A colonização se refere à replicação da bactéria na célula hospedeira. Um fator limitante para o crescimento bacteriano é a deficiência de ferro, sendo que sua maior parte presente no organismo animal não está disponível para a bactéria, em função da forma em que o mineral se encontra ligado (lactoferrina e transferrina). Assim, as bactérias ativam mecanismos para obter o ferro, causando lise de hemácias com auxílio de sideróforos. As bactérias apresentam também outras formas que auxiliam em sua fixação nos tecidos, esse mecanismo é denominado de aderência ou adesão. Todo esse processo é mediado por moléculas (adesinas ou ligantes) que se ligam à receptores presentes na superfície da célula de determinados tecidos do hospedeiro. Outros fatores podem contribuir com a virulência das bactérias, dentre eles: a presença de cápsula, os componentes da parede celular, a presença de enzimas e variação antigênica.

Disseminação no hospedeiro

A disseminação da bactéria no organismo dependerá dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Algumas delas permanecem no local da infecção primária, podendo ocorrer disseminação localizada. Esta pode ser facilitada com a presença de lesões no tecido do hospedeiro. A disseminação para organismo ocorre pela corrente sanguínea, pelo plasma ou em fagócitos. Quando ocorre septicemia, as bactérias se multiplicam e persistem na corrente sanguínea, levando ao desenvolvimento de doença sistêmica. Fatores que podem ser determinantes e influenciar na infecção bacteriana:

a) Fatores determinantes relacionados ao patógeno bacteriano (virulência; estabilidade no meio ambiente; rota de entrada; dose infectiva; tropismo tecidual; suscetibilidade às defesas do hospedeiro).

b) Fatores determinantes relacionados ao hospedeiro (espécie animal; raça; idade; sexo; fatores genéticos; fatores fisiológicos; imunocompetência).

c) Fatores modificantes (estresse ambiental; deficiência nutricional; lesão tecidual; imunossupressão; disfunção metabólica; doença intercorrente).

Da mesma forma, as bactérias podem causar lesões teciduais com auxílio de exotoxinas e endotoxinas. As exotoxinas podem ser produzidas por bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas, enquanto que as endotoxinas estão presentes na membrana externa das bactérias Gram-negativas, as quais são liberadas quando a célula é lisada.



Pesquise mais

Pesquise sobre *Cultivo, preservação e inativação das bactérias*. Consulte o material de apoio:

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. São Paulo: Artmed Editora, 2005.

Sem medo de errar

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os pontos que foram analisados anteriormente. O laboratório tem como objetivo prestar serviços aos profissionais da área veterinária, a fim de identificar agentes patológicos, utilizando diferentes métodos de diagnósticos para auxiliar na resolução de casos clínicos. Mediante as informações apresentadas na situação-problema e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Com relação às bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas, cite as principais estruturas (externas e internas) e componentes importantes que estão presentes nesses microrganismos.

Dentre as estruturas externas estão: o glicocálice, os flagelos, os filamentos, as axiais, as fímbrias, a *pili* e a parede celular. Dentre as estruturas internas estão: a membrana plasmática, o citoplasma, o nucleóide, os ribossomos, as inclusões e os endósporos.

- Cite as principais diferenças entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Bactérias Gram-positivas: na técnica de reação de Gram coram-se de violeta-escuro ou púrpura; possuem várias camadas de peptidoglicana; estão presentes nos ácidos teicoicos; são ausentes de espaço periplasmático e membrana externa; não contêm conteúdo lipopolissacarídeo; o conteúdo de lipídeos é baixo; possuem dois anéis no corpo basal; produzem exotoxinas; possuem alta resistência à ruptura física e alta resistência ao ressecamento.

Bactérias Gram-negativas: na técnica de reação de Gram coram-se de rosa ou vermelho; possuem uma fina camada de peptidoglicana; ausência do ácido teicoico; possuem espaço periplasmático e membrana externa; possuem alto conteúdo lipopolissacarídeo, lipídeos e lipoproteínas; possuem quatro anéis no corpo basal; produzem endotoxinas e exotoxinas; possuem baixa resistência à ruptura física e ao ressecamento.

- Cite as quatro etapas da técnica de coloração Gram.

O procedimento compreende quatro etapas: a) o esfregaço é fixado com auxílio de calor e submetido em um corante básico (corante de violeta); b) espera-se um curto período de tempo e aplica-se iodo (mordente). Após lavagem do iodo, bactérias Gram-positivas e Gram-negativas aparecem coradas na cor púrpura ou violeta escuro; c) nesta etapa, o esfregaço é lavado em álcool ou álcool-acetona, o qual irá remover a coloração púrpura de algumas espécies bacterianas; d) então, o esfregaço é lavado para ser retirado o álcool. Em seguida, ele é submetido ao corante de safranina (cor vermelha), lavado e seco com papel, para posterior análise no microscópio.



Atenção

As bactérias são microrganismos microscópicos que variam de 0,2 a 2,0 μ m de diâmetro por 2 a 8 μ m de comprimento. As bactérias têm duas formas básicas: cocos (esféricos) e bacilos (formato de bastão e de espiral).

Avançando na prática

Carbúnculo hemático

Descrição da situação-problema

Recentemente, o médico veterinário de uma cooperativa foi solicitado para fazer uma visita técnica em uma propriedade rural que pertence a um dos cooperados. O proprietário relatou ao médico veterinário que encontrou um bovino morto no pasto na parte da manhã. Durante o exame clínico na parte da tarde, ele observou que a carcaça já se encontrava em estado de inchaço, não encontrou sinais de picada de cobra, porém, havia sangue escuro não coagulado escorrendo pela boca e narinas. Suspeitando de carbúnculo hemático, ele coletou amostras de sangue e recomendou o atterramento da carcaça. De acordo com o médico veterinário, a necropsia não foi realizada para evitar a esporulação e o risco de contaminação ambiental prolongada. O material coletado foi acondicionado em recipiente estéril e devidamente lacrado para evitar possível propagação do agente suspeito, denominado de *Bacillus anthracis* (Bacilos Gram-positivos), que produz uma toxina complexa que causa edema (acúmulo de fluido) e aumento da permeabilidade vascular (hemorragia extensa) levando à morte do animal. Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Na técnica de coloração de Gram, explique a diferenciação de coloração das bactérias Gram-positivas em comparação com as bactérias Gram-negativas.
- Explique a estrutura da parede celular das bactérias Gram-positivas e das bactérias Gram-negativas.



Lembre-se

A parede celular das bactérias (Gram-positivas e Gram-negativas) é constituída por uma camada de peptidoglicanos (denominada de mureína) com a função de conferir proteção à célula.

Resolução da situação-problema

Em continuidade com o relato de caso, como se suspeitava de um agente bacteriano (*Bacillus anthracis*), o técnico laboratorial procedeu com a técnica de cultivo (ágar-sangue e ágar de MacConkey a 37°C por 24 a 48 horas) e a técnica de Gram, fixando o material em esfregaços e posterior coloração de Gram. A identificação dos isolados foram baseados na morfologia colonial, na aparência microscópica dos esfregaços corados pela técnica de Gram, pela ausência de crescimento em ágar de MacConkey. Ambos os testes confirmaram a presença do agente patológico, confirmando, assim, que a morte do animal foi desencadeada pelo agente *Bacillus anthracis*.

- Na técnica de coloração de Gram, explique a diferenciação de coloração das bactérias Gram-positivas em comparação com as bactérias Gram-negativas.

A diferenciação de coloração das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas está relacionada à parede celular de peptidoglicano (Gram-positivas possuem parede mais espessa) e à presença de uma camada de lipopolissacarídeo (presente em bactérias Gram-negativas). Com a aplicação de corante de cristal violeta e o iodo, forma-se um complexo maior do que a molécula que entrou, impedindo sua saída desse complexo nas bactérias Gram-positivas (permanecendo a cor violeta escuro ou púrpura), sendo que nas bactérias Gram-negativas a aplicação do álcool rompe a camada de polissacarídeos e o complexo de cristal violeta e iodo é removido da célula.

- Explique a estrutura da parede celular das bactérias Gram-positivas e das bactérias Gram-negativas.

Nas bactérias Gram-positivas, a parede celular consiste em muitas camadas de peptidoglicanos. Outros componentes também estão presentes na parede

celular, como o ácido teicoico, o qual está dividido em duas classes: ácido lipoteicoico (atravessa a camada de peptidoglicana) e o ácido teicoico (ligado à camada peptidoglicana). As bactérias Gram-negativas, ao contrário das bactérias Gram-positivas, possuem poucas camadas de peptidoglicano, não contêm os ácidos teicoicos e apresenta uma membrana externa. Entre a membrana externa e a membrana plasmática está presente o periplasma (fluido semelhante a um gel) no qual se encontra os peptidoglicanos ligados às lipoproteínas. A membrana externa é constituída de uma molécula complexa de lipopolissacarídeos (lipídeo A, um cerne polissacarídico e polissacarídeo), lipoproteínas e fosfolipídios. Esta membrana confere proteção à bactéria contra determinadas substâncias oriundas do ambiente, por exemplo, penicilina, enzimas digestivas, detergentes, sais biliares etc. Além de conferir proteção, na membrana estão presentes canais de porinas pelos quais são translocados os nutrientes (nucleotídeos, dissacarídeos, peptídeos, aminoácidos, vitamina B12 e ferro) para o interior da bactéria.



Faça você mesmo

Pesquise sobre bactérias. Consulte o material de apoio:

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. São Paulo: Artmed Editora, 2005.

Faça valer a pena

1. Em 1973, utilizando um aparato de estrutura metálica e com pequenas lentes de vidro polidas (hoje conhecido como microscópio) foi possível ampliar de 200 a 300 vezes um objeto. Esse instrumento permitiu, pela primeira vez, visualizar um microrganismo. Quem é considerado o pai da bacteriologia, que visualizou, pela primeira vez, microrganismos vivos?

Assinale a alternativa correta:

- a) Louis Pasteur.
- b) John Tyndall.
- c) Robert Koch.
- d) Anton van Leeuwenhoek.
- e) Paul Ehrlich.

2. As bactérias são microrganismos microscópicos que variam de 0,2 a 2,0 μ m de diâmetro por 2 a 8 μ m de comprimento. Elas possuem duas

formas básicas: _____ (esféricos) e _____ (formato de bastão e de espiral). Os arranjos dos _____ podem ser descritos em diplococos, estreptococos, tétrades, sarcinas e estafilococos.

Assinale a alternativa correta que completa a ordem das lacunas:

- a) Cocos, bacilos e cocos.
- b) Bacilos, cocos e glicocálice.
- c) Glicocálice, cocos e bacilos.
- d) Bacilos, glicocálice e bacilos.
- e) Cocos, glicocálice e cocos.

3. Bactérias que apresentam formato de bastões curvos são denominadas de _____, para as que apresentam forma helicoidal são denominadas de _____ (movem-se com auxílio de filamentos axiais) e as que apresentam formato helicoidal e flexível são denominadas de _____.

Assinale a alternativa correta que completa a ordem das lacunas:

- a) Espirilos, vibriões e espiroqueta.
- b) Vibriões, espirilos e espiroqueta.
- c) Espiroqueta, vibriões e espirilos.
- d) Bacilos, espirilos e espiroqueta.
- e) Cocos, vibriões e espirilos.

Seção 3.2

Classificação das bactérias I

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos a Família *Enterobacteriaceae* e as principais doenças de importância na Medicina Veterinária. Para melhor compreender o conteúdo abordado, vamos acrescentar informações à situação-problema referente ao relato de caso apresentado no item *Convite ao estudo*, dessa forma, você participará indiretamente na resolução do caso.

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário recebeu amostras para diagnóstico laboratorial. Anexo às amostras, o médico veterinário encaminhou um laudo técnico contendo informações detalhadas do atendimento clínico e indicando a suspeita do agente bacteriano *Escherichia coli*. De acordo com o laudo técnico, as amostras foram coletadas de leitões após desmame. Durante o exame clínico, o médico veterinário observou ataxia, apatia e edema de face em alguns leitões. Em outros, foi observado paralisia, tremores, convulsões e movimento de pedalagem. Mediante as informações levantadas, o profissional suspeitou que um agente bacteriano acometia o animal. Em seguida, ele coletou amostras de secreções com o auxílio de swab estéril para possível identificação do agente patológico. De acordo com o técnico laboratorial, as amostras recebidas continham material biológico de secreção.

Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Com relação ao agente patológico suspeito "*Escherichia coli*", cite o nome da família bacteriana ao qual pertence.
- Cite as principais estruturas que favorecem a infecção no agente bacteriano "*Escherichia coli*".
- Cite os métodos de identificação realizados para diferenciação dos membros patogênicos da família em que se enquadra o agente suspeito.

Não pode faltar

Prezado aluno, a partir desta seção vamos começar a estudar a morfologia e os procedimentos para identificação das bactérias. Vamos lá!

Família *Enterobacteriaceae*

As enterobactérias são classificadas como bastonetes retos e Gram-negativas. São microrganismos anaeróbios facultativos, não formam esporos, crescem em meios não enriquecidos, fermentam glicose, açúcares, lactose (*Escherichia coli*), reduzem nitrato a nitrito, são oxidase-negativas, catalase-positivas e possuem flagelos peritríqueos. Entre os produtos celulares de interesse médico veterinário estão as endotoxinas e os sideróforos. Os membros da família *Enterobacteriaceae* são indistinguíveis em seu aspecto morfológico.

A Família *Enterobacteriaceae* está distribuída em três categorias de interesse veterinário: patógenos principais: *Escherichia* (*Escherichia coli*), *Salmonella* (*Salmonella Thyphimurium*, *Salmonella Dublin* e *Salmonella Enteritidis*) e *Yersinia* (*Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica* e *Yersinia pseudotuberculosis*); patógenos oportunistas: *Proteus* (*Proteus Mirabilis* e *Proteus vulgaris*), *Klebsiella* (*Klebsiella pneumoniae*), *Enterobacter* (*Enterobacter aerogenes*), *Morganella* (*Morganella morganii*), *Serratia* (*Serratia marcescens*) e *Edwardsiella* (*Edwardsiella tarda*) e não patógenos (isolados em fezes e ambiente), como *Erwinia* e *Hafnia*.

Diagnóstico: a diferenciação dos membros patogênicos pode ser realizada pelos seguintes métodos: cultura (meio ágar *MacConkey*, ágar verde-brilhante, substrato/lactose, ágar entérico de *Hektoen*, ágar sorbitol *MacConkey*, ágar xilose lisina deoxicolato, meio de enriquecimento), testes bioquímicos, testes imunológicos (sorotipagem dos antígenos O, K, H e detecção de produtos de virulência) e PCR.



Assimile

Colônias fermentadoras de lactose cultivadas em ágar *MacConkey* apresentam coloração rosa.

Colônias não fermentadoras de lactose cultivadas em ágar *MacConkey* apresentam coloração pálida.

Morfologia e identificação das bactérias

Escherichia

O gênero *Escherichia* possui várias espécies, sendo a *Escherichia coli* a mais relevante na Medicina Veterinária. Os membros de *Escherichia* são fermentadores de lactose, sua estrutura é composta de cápsula (presença de mais de 80 antígenos), membrana externa (lipídeo A – importante na virulência), flagelos peritríqueos, antígenos (O, H, K, usados na sorotipagem) e adesinas (promovem a aderência), componentes que favorecem a infecção do agente bacteriano. Em mamíferos, após o nascimento, ocorre naturalmente a colonização intestinal por *Escherichia coli*, participando da microbiota intestinal. As linhagens patogênicas possuem fatores (cápsula, endotoxinas, enterotoxinas, sideróforos, fator citotóxico necrosante, toxina *shiga-símile* e hemolisina) que auxiliam na colonização das superfícies das mucosas com produção de doença.



Refleta

Fatores que podem favorecer a infecção de *Escherichia coli* em animais jovens são: imunidade insuficiente, superlotação e higiene deficiente, microbiota mal estabelecida, sistema imunológico imaturo, fatores estressantes, aumento de linhagens patogênicas, entre outros.

Diagnóstico: o diagnóstico laboratorial se baseia na demonstração do agente. As amostras incluem: leite mastítico, amostras teciduais em casos de septicemia, fezes de animais que apresentam doença entérica, urina e, em casos de piometra ou metrite, coleta-se com swabs cervicais. Com relação à demonstração de cepas produtoras de doença edematosa, alterações teciduais macroscópicas e microscópicas podem auxiliar no diagnóstico. Em meio *MacConkey* (37°C por 24 a 48 horas) as colônias apresentam cor rosa forte. No meio ágar-sangue, as colônias apresentam-se acinzentadas, redondas, brilhantes e com odor característico. O teste bioquímico é necessário para identificar casos isolados de mastite por coliforme ou cistite. Pode ser realizado também o teste de aglutinação para discriminação sorológica (antígenos O e H). Linhagens de *Escherichia coli* enterotoxigênicas podem ser confirmadas por métodos imunológicos (presença de enterotoxinas). Para enterotoxinas (intestino delgado) pode-se empregar anticorpos monoclonais. PCR: sondas de DNA específicas para genes de enterotoxinas (termolábeis e termestáveis).

Salmonella

As bactérias *Salmonellas* apresentam uma ampla variedade de sorotipos (mais de 2000), os quais não são fermentadores de lactose. Presentes no solo, na água, em

vegetais, na alimentação de animais, sendo que a infecção ocorrerá pela ingestão de bactérias viáveis (no ambiente, as fezes são a principal fonte de contaminação). Uma vez na mucosa intestinal, a *Salmonella* adere à parede com auxílio das fimbrias, produzindo invaginações na membrana celular, que permitem a entrada da bactéria (por meio das vesículas ligadas à membrana) para se replicarem. Fatores que podem auxiliar na colonização da *Salmonella*, como adesinas (processo de aderência), genes de invasiva (interiorização da bactéria), exotoxinas, enterotoxinas, sideróforos (permite o crescimento em condições de restrição de ferro), presença de plasmídeos e o regulador SlyA que permite a bactéria sobreviver dentro dos macrófagos.



Exemplificando

Fatores estressantes têm sido associados ao desenvolvimento da infecção por *Salmonella*. Entre os fatores estão: superlotação, prenhez, privação de água, transporte, alterações da dieta, procedimentos cirúrgicos e infecções intercorrentes.

Diagnóstico: o diagnóstico laboratorial se baseia na demonstração do agente. Em casos de infecção intestinal, recomenda-se como material de análise, as fezes. Em caso de infecção sistêmica, aconselha-se a coleta de sangue (hemocultura), baço e medula óssea (*post mortem*). Inoculação direta: utiliza-se meio de ágar MacConkey, ágar verde-brilhante ou ágar XLD (37°C por até 48 horas). Inoculação em caldo enriquecido: utiliza-se meio de ágar XLD ou ágar VB com caldos enriquecidos de selenito de Ferro, Rappaport ou tetracionato podem ser utilizados (37°C por até 48 horas). Colônias suspeitas observadas nos meios anteriores: utiliza-se meio de ágar TSI e caldo lisina descarboxilase. Confirmação sorológica (teste bioquímico – disponível comercialmente): antissoro polivalente. Sorotipagem (teste bioquímico – disponível comercialmente): antissoro específico “H” ou “O”. Biotipagem: utilizado para distinguir sorotipos antigenicamente semelhantes (*Salmonella Pullorum* e *Salmonella Gallinarum*). Fototipagem: utilizado para estudos epidemiológicos (características específicas). Testes sorológicos: empregados para bovinos e ovinos (ELISA e teste de aglutinação). PCR: pode ser utilizado para detecção do agente em alimentos, fezes e água.

Yersinia

O gênero *Yersinia* possui mais de 10 espécies, sendo que *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* e *Yersinia ruckeri* são de interesse médico veterinário. A *Yersinia pseudotuberculosis* possui mais de 10 sorotipos, dos quais os sorotipos I, II e III estão presentes na maioria dos isolados. Já a *Yersinia enterocolitica* possui cinco biótipos, mais de 50 sorotipos e está presente em isolados, principalmente os antígenos somáticos 2, 3, 5, 8 e 9. As *Y. pseudotuberculosis* e *Y. enterocolitica* são menos virulentas do que a *Y. pestis*, não apresentando uma

infecção generalizada. A infecção pode ser facilitada por diversos fatores que estão presentes nessas bactérias, como: proteínas invasivas, proteínas de adesão e a proteína GsrA (auxilia na sobrevivência da bactéria dentro dos macrófagos). A *Y. pestis* apresenta fatores importantes como cápsula e ativador de plasminogênio (utilizado na disseminação), que a possibilita ser mais virulenta.

Diagnóstico: o diagnóstico laboratorial se baseia na demonstração do agente. Amostras de fezes, tecidos contaminados e nódulos linfáticos podem ser utilizados para análise microbiológica. Recomenda-se meios de cultura específicos (CIN) para cultivo da *Y. enterocolitica*. A presença de sais biliares no meio pode inibir o crescimento da *Y. enterocolitica* (o meio ágar MacConkey possui baixo efeito inibidor). Para amostras de tecidos, pode-se cultivar em meios de ágar-sangue ou ágar MacConkey (37°C por até 72 horas). Nos esfregaços de abscessos ou aspirado de linfonodos podem ser demonstrados bacilos de coloração bipolar (método de Giemsa). Outros métodos de diagnóstico são testes diretos com anticorpos fluorescentes e teste de hemaglutinação passiva em amostras de soro emparelhado (utiliza-se antígeno fração 1A).

Patógenos oportunistas

Os patógenos oportunistas (*Edwardsiella tarda*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* e *Serratia marcescens*) possuem mecanismos que auxiliam em sua sobrevivência nos tecidos ou órgãos acometidos do hospedeiro. A presença de fatores como cápsula (auxilia na inibição da fagocitose), adesinas (principalmente para as bactérias que colonizam o trato urinário), sideróforos (permite a sobrevivência em meio com limite de ferro) e endotoxinas (causam efeitos tóxicos) auxiliam na colonização desses microrganismos nos tecidos e órgãos. Porém, raramente a infecção por esses microrganismos desencadeará uma doença entérica.

Diagnóstico: o diagnóstico laboratorial se baseia na demonstração do agente. Amostras são obtidas de órgãos infectados. Utiliza-se meio ágar-sangue ou ágar MacConkey para cultivo (37°C por 24 a 48 horas). A identificação dos isolados se fundamenta na aparência das colônias e em seu crescimento em meio ágar MacConkey (bacilos Gram-negativos). Aplica-se teste bioquímico para identificação presuntiva ou definitiva.



Vocabulário

Mordante: refere-se à substância adicionada a uma solução corante que a faz corar com mais intensidade.

Patógeno oportunista: refere-se a um microrganismo que ordinariamente não causa doença, mas pode se tornar patogênico em

certas circunstâncias.

Postulados de Koch: refere-se aos critérios utilizados para determinar o agente etiológico de uma doença infecciosa.

Principais doenças de importância na Medicina Veterinária

Escherichia

As principais doenças de importância na Medicina Veterinária são:

a) Entérica: *Escherichia coli* enterotoxigênica (causa: diarreia em suínos, bezerros e cordeiros recém-nascidos; diarreia pós-desmame em leitões); *E. coli* enteropatogênica, e *E. coli* enteroagregativa (causa: diarreia em leitões, cordeiros e filhotes de cães); *E. coli* verotoxigênica (causa: doença do edema em suínos; enterocolite hemorrágica em bezerros; diarreia pós-desmame em leitões; síndrome da colite hemolítico-urêmica hemorrágica em humanos); *E. coli* necrotoxigênicas (causa: colite hemorrágica em bovinos; enterite em leitões e bezerros; diarreia em coelhos; disenteria em equinos).

b) Septicêmica: *E. coli* septicêmicas (causa: colissepticemia em bezerros, leitões, filhotes de cães e aves domésticas; boca aguada em cordeiros; artrite; meningite).

c) Não entérica: *E. coli* uropatogênicas (causa: cistite em cadelas); *E. coli* oportunista (causa: mastite por coliforme em vacas e porcas; piometra em cadelas e cervídeos; metrite; onfalite em cordeiros e pintos).

Salmonella

As principais doenças de importância na Medicina Veterinária são: *Salmonella* *Typhimurium* (causa: enterocolite e septicemia em várias espécies animais; intoxicação alimentar em humanos); *Salmonella* *Dublin* (causa: condições adversas da doença em bovinos; enterocolite e septicemia em ovinos, equinos e cães); *Salmonella* *Choleraesuis* (causa: enterocolite e septicemia em suínos); *Salmonella* *Pullorum* (causa: pulrose – diarreia branca bacilar em pintos); *Salmonella* *Gallinarum* (causa: tifo aviário em aves adultas); *Salmonella* *Arizonae* (causa: infecção do paracólon em perus); *Salmonella* *Enteritidis* (causa: doença subclínica em aves domésticas; doença clínica em mamíferos; intoxicação alimentar em humanos); *Salmonella* *Brandenburg* (causa: aborto em ovinos).

Yersinia

As principais doenças de importância na Medicina Veterinária são: *Yersinia* *enterocolitica* (causa: infecções entéricas e enterites (ocasionalmente) em suínos, animais domésticos e silvestres; abortos em cabras); *Yersinia* *pseudotuberculosis* (causa: enterite (animais jovens), infecções subclínicas (animais velhos), linfadenite

mesentérica em cervídeos, ovinos, caprinos, bovinos, búfalos e suínos; abortos esporádicos em bovinos, ovinos, caprinos; necrose hepática focal e septicemia em cobaias e animais de laboratório; enterocolite e linfadenite mesentérica em pássaros de gaiola); *Yersinia pestis* (causa: peste silvestre em roedores; peste felina em gatos; peste bubônica em humanos); e *Yersinia ruckeri* (causa: inflamação perioral em peixes).

Patógenos oportunistas

As principais doenças de importância na Medicina Veterinária são: *Klebsiella pneumoniae* (causa: mastite por coliformes em vacas; pneumonia em bezerros e potros; endometrite em éguas; infecções no trato urinário de cães); *Proteus mirabilis* e *Proteus vulgaris* (causa: infecção no trato urinário de cães e equinos; otite externa em cães); *Enterobacter aerogenes* (causa: mastite por coliforme em vacas e porcas); *Edwardsiella tarda* (causa: diarreia e infecções em feridas); e *Serratia marcescens* (causa: mastite bovina (raro); septicemia em frangos).



Pesquise mais

Leia mais sobre esse tema no seguinte artigo:

ANDREATTI FILHO, Raphael Lúcio. et al. Sorovares de Salmonella isolados de materiais avícolas no período de 1994 a 1999. **Revista de educação continuada em medicina veterinária e zootecnia**, São Paulo, v. 4, n. 3, p. 90-101, 2001. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz/article/view/3310/2515>>. Acesso em: 14 jul. 2016.

Sem medo de errar

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os pontos que foram analisados anteriormente na situação-problema.

O laboratório tem como objetivo prestar serviços aos profissionais da área veterinária, a fim de identificar agentes patológicos utilizando diferentes métodos de diagnósticos para auxiliar na resolução de casos clínicos.

Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Com relação ao agente patológico suspeito "*Escherichia coli*", cite o nome da família bacteriana a qual ele pertence.

O agente patológico suspeito "*Escherichia coli*" pertence à família *Enterobacteriaceae*.

- Cite as principais estruturas que favorecem a infecção no agente bacteriano "*Escherichia coli*".

Sua estrutura é composta de cápsula (presença de mais de 80 antígenos), membrana externa (lipídeo A – importante na virulência), flagelos peritríqueos, antígenos (O, H, K usados na sorotipagem) e adesinas (promove a aderência) que favorecem a infecção do agente bacteriano.

- Cite os métodos de identificação realizados para diferenciação dos membros patogênicos da família em que se enquadra o agente suspeito.

A diferenciação dos membros patogênicos pode ser realizada pelos seguintes métodos: formação da lactose em ágar MacConkey; reações em meios seletivos/indicadores; morfologia das colônias; reações no ágar TSI (*triple sugar iron*); testes bioquímicos adicionais; testes bioquímicos comerciais e sorotipagem de *Escherichia coli*, espécies de *Salmonella* e de *Yersinia*.



Atenção

Entre os fatores predisponentes à infecção por *Escherichia coli* estão: superlotação, higiene deficiente, imunidade insuficiente, sistema imunológico imaturo, aumento de linhagens patogênicas, microbiota mal estabelecida e fatores estressantes.

Avançando na prática

Mastite em vacas leiteiras

Descrição da situação-problema

Recentemente, o médico veterinário de uma cooperativa foi solicitado para uma visita técnica em uma propriedade rural que pertence a um dos cooperados. O proprietário relatou que uma das vacas apresentava sensibilidade dolorosa durante a ordenha. Durante o exame clínico, o médico veterinário observou depressão, sensibilidade dolorosa, aumento de temperatura regional e um quadro febril. Suspeitando de mastite, ele coletou amostras de leite e de secreções do teto da glândula mamária (utilizando swab esterilizado). O material coletado foi acondicionado em recipiente estéril (para evitar a contaminação ambiental), lacrado e identificado. Em seguida, o profissional encaminhou as amostras para análise laboratorial para identificar o agente infeccioso.

Mediante as informações apresentadas e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Cite os fatores que predispõe à infecção pelo agente bacteriano suspeito *Escherichia coli*.
- Classifique o agente bacteriano suspeito em entérico, septicêmico ou não entérico e cite as linhagens em cada categoria.



Lembre-se

A parede celular das bactérias (Gram-positivas e Gram-negativas) é constituída por uma camada de peptidoglicanos (denominada de mureína) com a função de conferir proteção à célula.

Resolução da situação-problema

Em continuidade com o relato de caso, como se suspeitava de um agente bacteriano, o técnico laboratorial procedeu com a técnica de cultivo (ágar MacConkey, a 37°C por 24 a 48 horas), fixação do material em esfregaços e posterior coloração de Gram. Na técnica de cultivo, as colônias apresentaram coloração rosa (em virtude da produção de ácido a partir da lactose) e morfologicamente não havia colônias mucoides. Na técnica de coloração de Gram, as bactérias apresentaram coloração rosa (a aplicação do corante safranina irá corar as bactérias Gram-negativas na coloração rosa). Por fim, as amostras foram submetidas a um teste bioquímico. Os resultados dos testes realizados evidenciaram a presença de *E. coli* no material biológico analisado.

- Cite os fatores que predispõem à infecção pelo agente bacteriano suspeito *Escherichia coli*.

Entre os fatores predisponentes à infecção por *Escherichia coli* estão: imunidade insuficiente, superlotação, higiene deficiente, sistema imunológico imaturo, aumento de linhagens patogênicas, microbiota mal estabelecida, fatores estressantes, entre outros.

- Classifique o agente bacteriano suspeito em entérico, septicêmico ou não entérico e cite as linhagens em cada categoria.

O agente bacteriano suspeito *E. coli* causador de mastite está classificado como não entérico. As linhagens bacterianas classificadas como entéricas são: *E. coli* enterotoxigênica, *E. coli* enteropatogênica, *E. coli* enteroagregativa, *E. coli* verotoxigênica e *E. coli* necrotoxigênicas. As linhagens bacterianas classificadas como septicêmicas são: *E. coli* septicêmicas. As linhagens bacterianas classificadas como não entéricas são: *E. coli* uropatogênicas e *E. coli* oportunista.

**Faça você mesmo**

Pesquise sobre patógenos oportunistas da Família *Enterobacteriaceae*. Consulte o material de apoio:

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. São Paulo: Artmed Editora, 2005.

Faça valer a pena

1. A família *Enterobacteriaceae* possui 46 gêneros e 263 espécies e subespécies de bactérias. Os membros dessa família são classificados como:

Assinale a alternativa correta:

- a) Gram-positivos.
- b) Gram-negativos.
- c) Bacilos.
- d) Microrganismos aeróbios.
- e) Microrganismos ausentes de flagelos peritríqueos.

2. A família *Enterobacteriaceae* está distribuída em três categorias de interesse veterinário: patógenos principais (causam doenças entéricas e sistêmicas), patógenos oportunistas (causam doença clínica) e não patógenos (isoladas em fezes e ambiente). Indique um dos gêneros classificados como não patógenos.

Assinale a alternativa correta:

- a) *Escherichia*.
- b) *Salmonella*.
- c) *Yersinia*.
- d) *Erwinia*.
- e) *Proteus*.

3. Durante uma bateria de exames microbiológicos, o técnico laboratorial isolou membros da família *Enterobacteriaceae* em amostras de fezes de leitões. Entretanto, a técnica utilizada não possibilitou identificar

especificamente o agente patogênico. De acordo com o técnico, os membros da família *Enterobacteriaceae* são indistinguíveis com base na morfologia. Para auxiliá-lo, indique uma técnica adequada para identificar antígenos presentes no microrganismo e, assim, obter mais informações para identificar o agente patogênico.

Assinale a alternativa correta:

- a) Cultivo em meio ágar MacConkey.
- b) Cultivo em meio ágar verde-brilhante.
- c) Testes imunológicos.
- d) Cultivo em meio ágar sorbitol MacConkey.
- e) Cultivo em meio ágar sangue.

Seção 3.3

Classificação das bactérias II

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção estudaremos os gêneros *Bacillus*, *Burkholderia*, *Borrelia* e as principais doenças de importância na Medicina Veterinária. Para melhor compreender o conteúdo abordado, vamos acrescentar informações na situação-problema referente ao relato de caso apresentado no item *Convite ao Estudo*, dessa forma, você participará indiretamente na resolução do caso.

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário recebeu amostras para diagnóstico laboratorial. Anexo às amostras, o médico veterinário encaminhou um laudo técnico contendo informações detalhadas do atendimento clínico e indicando a suspeita de um agente bacteriano pertencente ao gênero *Bacillus*. De acordo com o laudo técnico, as amostras foram coletadas de uma carcaça de bovino em estado inicial de decomposição. Durante o exame clínico, o médico veterinário observou a carcaça inchada, presença de sangue escuro e não coagulado escorrido pela boca, narinas e ânus. Mediante as informações levantadas, o profissional suspeitou que um agente bacteriano acometia o animal. Em seguida, ele coletou amostras de sangue periférico e de secreções para uma possível identificação do agente patológico. De acordo com o técnico laboratorial, as amostras (sangue e secreções) estavam identificadas e acondicionadas adequadamente.

Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Com relação ao gênero *Bacillus* do agente patológico suspeito, cite as espécies bacterianas de interesse veterinário e suas doenças ou consequências da infecção.
- Cite as principais características dos agentes bacterianos pertencentes ao gênero *Bacillus*.
- Descreva o diagnóstico para agentes bacterianos pertencentes ao gênero *Bacillus*.

Não pode faltar

Prezado aluno, a partir desta seção, vamos conhecer os gêneros *Bacillus*, *Burkholderia*, *Borrelia* e as principais doenças de importância na Medicina Veterinária. Vamos lá!

Bacillus

Estes microrganismos são classificados como Gram-positivos, anaeróbios facultativos e aeróbios, crescem em meios não enriquecidos e são bastonetes imóveis que produzem esporos. Distribuídos amplamente no meio ambiente, os endósporos podem sobreviver por mais de 50 anos no solo. Fatores de virulência incluem: cápsula (capacita a forma vegetativa, de modo a evitar a fagocitose); a toxina do edema (Edtx) causa lesões hemorrágicas em múltiplos órgãos e suprime a agregação plaquetária induzida pela trombina e a coagulação; a toxina letal (Letx) possui dois fatores: PA (Antígeno Protetor), responsável pela ligação de Letx às "células-alvo" e o LF (Fator Letal), que é responsável por sua atividade tóxica; outros produtos, como AtxA e AcpA (são produzidos em resposta aos fatores ambientais), o InhA (inibidor imune A), o MprF (fator de resistência a múltiplos peptídeos), Óxido nítrico sintase (que protege a germinação de esporos da produção de óxido nítrico pelos macrófagos das células hospedeiras), são importantes na virulência e sobrevivência da bactéria. Solos ricos em cálcio e nitrato, com pH variando de 5,0 a 8,0 e temperaturas de 15,5°C, são fatores favoráveis para que ocorra a esporulação e proliferação bacteriana. A infecção ocorre pela ingestão de alimentos e água, exposição de feridas e picadas de artrópodes contaminados.



Assimile

A formação de endósporos é o fator mais importante na persistência e na disseminação do *Bacillus anthracis*.

Diagnóstico: carcaças de animais infectados apresentam inchaço, não exibem *rigor mortis* e apresentam sangue escuro e não coagulado escorrido pela boca, narinas e ânus. Não se recomenda abrir a carcaça de animais infectados, a fim de evitar contaminação ambiental. É preciso coletar amostras de sangue periférico em bovinos e fluido peritoneal de suínos. Esse material pode ser cultivado em ágar-sangue e ágar MacConkey (37°C por 24 a 48 horas). Para identificação dos isolados, os seguintes critérios podem ser seguidos: morfologia da colônia; avaliação pela técnica de coloração de Gram; e ausência de crescimento no meio ágar MacConkey. Também podem ser realizados testes bioquímicos e teste de Ascoli (para detecção de antígenos de *Bacillus anthracis* em materiais como couro).



Exemplificando

Em casos suspeitos de carbúnculo hemático, o médico veterinário deve informar imediatamente o Serviço Veterinário Oficial. Em regiões endêmicas, é aconselhável a vacinação anual, principalmente em bovinos e ovinos. Em regiões não endêmicas, após o surto da doença, deve-se proibir a movimentação de animais.

Burkholderia

Neste gênero, duas espécies são de interesse veterinário, a *Burkholderia pseudomallei* e a *Burkholderia mallei*. A espécie *Burkholderia pseudomallei* é aeróbica, possui flagelo móvel, é um bastonete Gram-negativo e possui cápsula constituída de carboidratos. As colônias apresentam mucoides, que vão de lisas à opacas e rugosas (tornando-se marrom-amareladas), crescem em temperatura de 42°C, são oxidase-positiva, possuem odor de mofo, catalase-positiva, glicose-positiva, lactose-positiva, sacarose-positiva, indol-negativa, hidrolisa a ureia, reduz nitrato em gás nitrogênio e a hidrólise ocorre em ágar sangue. A parede celular é composta por lipopolissacarídeos (lipídeo A, antígeno O e receptores *Toll-like*) e proteínas. Produtos celulares (adesina, cápsula, parede celular e outros produtos) auxiliam sua aderência, sobrevivência e determina a virulência da bactéria.

A espécie *Burkholderia mallei* é aeróbica, não possui flagelo (não é móvel), é um bastonete Gram-negativo e possui cápsula constituída de carboidratos. As colônias apresentam-se de brancas e lisas à marrom e granulares, não possuem odor característico, não crescem a 42°C, não são móveis, possuem ação oxidase variável (oxidase-negativa, glicose-positiva, lactose-negativa e sacarose-negativa), catalase-positiva, indol-negativa, catabolizam a glicose por meio de reação de oxidação, hidrolisam a ureia e reduzem nitrato sem produção de gás. A parede celular é composta de lipopolissacarídeos (lipídeo A, antígeno O e receptores *Toll-like*) e proteínas. Produtos celulares (cápsula, parede celular e produtos diversos) auxiliam sua aderência, sobrevivência e determinante na virulência da bactéria.

Diagnóstico: as amostras devem ser manipuladas em capela de biossegurança. Coleta-se descarga de tecidos afetados, abscessos e sangue. *Burkholderia mallei* cresce em meios contendo 1% de glicerol e em meio ágar MacConkey (37°C por dois a três dias). *Burkholderia pseudomallei* cresce em meios com ágar-sangue e ágar MacConkey (37°C por 24 a 48 horas). Para identificação dos isolados, observa-se a morfologia da colônia, odor e características bioquímicas. Para diferenciação da *Burkholderia pseudomallei* e *Burkholderia mallei*, observa-se características de motilidade, crescimento em meio com citrato, redução de nitrato em nitrogênio gasoso e crescimento em temperatura de 42°C. Sorologicamente, a doença do

mormo é diagnosticada com auxílio do teste de fixação de complemento. Para fins de comércio internacional de animais, aplica-se o teste de fixação de complemento e o teste ELISA. O teste intradermopalpebral da maleína indica a infecção, ele tem sido utilizado para identificação de animais infectados e erradicação do mormo.



Refleta

Equinos com características da doença do mormo devem ser submetidos a uma lista de diagnóstico diferencial: garrotilho (*Streptococcus equi*), linfangite epizoótica (*Histoplasma farciminosum*), melioidose (*Burkholderia pseudomallei*), esporotricose (*Sporothrix schenckii*) e linfangite ulcerativa (*Corynebacterium pseudotuberculosis*).

Borrelia

As bactérias pertencentes ao gênero *Borrelia* são mais longas e largas do que as espiroquetas, são parasitas obrigatórios, Gram-negativas, possuem um cromossomo linear de fita dupla, plasmídeos lineares e circulares, possuem uma bainha externa que recobre fibrilas axiais (contendo de 15 a 20 endoflagelos). Esses patógenos são transmitidos por artrópodes (carrapatos), os quais adquirem a bactéria de animais (camundongos, ratos silvestres, porcos-espinho, lagartos e aves) infectados. As bactérias são diferenciadas de outras espiroquetas pela morfologia, pelo DNA genômico e por características bioquímicas.

Diagnóstico: demonstração do agente bacteriano. Histórico de exposição à infestação por carrapatos. Aplica-se microscopia de campo escuro com imunofluorescência para demonstração do microrganismo em tecidos e fluidos. Aplica-se o teste de imunofluorescência indireta (ELISA) e testes imunoenzimático. Aplica-se o teste de PCR em amostras de tecido ou de fluido, utilizando *Primers* específicos de DNA. Para o isolamento em cultivo, utiliza-se material coletado da orelha obtido por biópsia com *punch* de cães e camundongos, o meio ágar BSKII sob temperatura de 33°C.



Vocabulário

Microrganismo aeróbico: refere-se aos microrganismos que requerem oxigênio (O₂) para seu crescimento.

Microrganismo anaeróbico: refere-se aos microrganismos que não requerem oxigênio (O₂) para seu crescimento.

Microrganismo anaeróbico facultativo: refere-se aos microrganismos que podem crescer na presença ou na ausência de oxigênio molécula (O₂).

Principais doenças de importância na Medicina Veterinária

Bacillus

As principais doenças de importância na Medicina Veterinária são: *Bacillus anthracis* (Bovinos e ovinos: antraz agudo causa septicemia, superagudo é fatal; Suínos: antraz subagudo causa edema na região da faringe; Equinos: antraz subagudo causa edema localizado, pode ocorrer septicemia associada com cólica e enterite; Humanos: apresenta a forma cutânea (infecção com pus semelhante a um furúnculo), pulmonar (semelhante a uma gripe, seguido de problemas respiratórios graves) e intestinal (febre, diarreia e vômitos com presença de sangue); *Bacillus cereus* (Bovinos: causa mastite, porém é raro; Humanos: causa intoxicação alimentar e infecções nos olhos); *Bacillus licheniformis* (Bovinos e ovinos: causa abortos esporádicos); *Bacillus larvae* (Abelhas: causa a doença de crias americanas).

Burkholderia

As principais doenças de importância na Medicina Veterinária são: *Burkholderia mallei* (Equinos (humanos e carnívoros são suscetíveis): causa a doença do mormo); e *Burkholderia pseudomallei* (Várias espécies de animais (bovinos, suínos, cães, gatos, macacos, roedores, camelos, pássaros, peixes, etc.) e infecção ocasional (humanos são suscetíveis): causa a doença de Melioidose).



Pesquise mais

Leia mais sobre o tema no seguinte artigo:

ZAPPA, Vanessa; LEOPOLDINO, Danielly Cristina de Castro; OLIVEIRA, Richard Guimarães de; Mormo em equinos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, São Paulo, ano 7, n. 12, jan. 2009. Disponível em: <http://www.faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/nx84WKidH1wD4Os_2013-6-21-11-56-24.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2016.

Borrelia

As principais doenças de importância na Medicina Veterinária são: *Borrelia anserina* (Borreliose aviária: acomete aves, causa processo febril, depressão, perda de peso e anemia); *Borrelia theileri* (Borreliose bovina: acomete ruminantes e equinos, causando quadro febril com anemia); *Borrelia burgdorferi lato sensu* (Borreliose de Lyme: acomete cães, equinos, bovinos, ovinos e humanos, causando febre, letargia, artrite e distúrbios cardíacos, renais e neurológicos); *Borrelia coriaceae* (Aborto enzoótico bovino: acomete bovinos e cervídeos, causa aborto); *Borrelia recurrentis* (Febre recorrente: acomete várias espécies, causa um processo febril com ciclos de febre).

Sem medo de errar

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os pontos que foram analisados anteriormente. O laboratório tem como objetivo prestar serviços aos profissionais da área veterinária, a fim de identificar agentes patológicos, utilizando diferentes métodos de diagnósticos para auxiliar na resolução de casos clínicos. Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Com relação ao gênero *Bacillus* do agente patológico suspeito, cite as espécies bacterianas de interesse veterinário e suas doenças ou consequências da infecção.

Bacillus anthracis (Bovinos e ovinos: antraz agudo causa septicemia, superagudo é fatal; Suínos: antraz subagudo causa edema na região da faringe; Equinos: antraz subagudo causa edema localizado; pode ocorrer septicemia associada com cólica e enterite; e Humanos: apresenta a forma cutânea, pulmonar e intestinal); *Bacillus cereus* (Bovinos: causa mastite, porém é raro; Humanos: causa intoxicação alimentar e infecções nos olhos); *Bacillus licheniformis* (Bovinos e ovinos: causa abortos esporádicos); e *Bacillus larvae* (Abelhas: causa a doença de crias americanas).

- Cite as principais características dos agentes bacterianos pertencentes ao gênero *Bacillus*.

As espécies bacterianas pertencentes ao gênero *Bacillus* são classificadas em Gram-positivas, anaeróbias facultativas e aeróbias, crescem em meios não enriquecidos e são bastonetes imóveis que produzem esporos.

- Descreva o diagnóstico para agentes bacterianos pertencentes ao gênero *Bacillus*.

As carcaças de animais infectados apresentam-se inchadas, não exibem *rigor mortis*, pode-se observar a presença de sangue escuro e não coagulado, que pode estar escorrido pela boca, pelas narinas e ânus. Não se recomenda abrir a carcaça de animais infectados, a fim de evitar contaminação ambiental. É preciso coletar amostras de sangue periférico em bovinos e fluido peritoneal de suínos. Esse material pode ser cultivado em ágar-sangue e ágar MacConkey (37°C por 24 a 48 horas). Para identificação dos isolados, os seguintes critérios podem ser seguidos: morfologia da colônia; avaliação pela técnica de coloração de Gram; e ausência de crescimento no meio ágar MacConkey. Testes bioquímicos podem ser aplicados para identificação da espécie bacteriana. O teste de Ascoli pode ser aplicado para detecção de antígenos de *Bacillus anthracis* em materiais como couro.



Faça você mesmo

Pesquise sobre a *Instrução normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013*, que aborda sobre as doenças de notificação obrigatória ao serviço veterinário oficial, composto pelas unidades do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e pelos Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Animal. Acesse o site do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento no seguinte link: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=abreLegislacaoFederal&chave=50674>>. Acesso em: 20 jul. 2016.



Atenção

Bacillus são classificados como Gram-positivos, anaeróbios facultativos e aeróbios, crescem em meios não enriquecidos e são bastonetes imóveis que produzem esporos.

Avançando na prática

Mormo

Descrição da situação-problema

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário recebeu amostras para diagnóstico laboratorial. Anexo às amostras, o médico veterinário encaminhou um laudo técnico contendo informações detalhadas do atendimento clínico e indicando a suspeita de um agente bacteriano pertencente ao gênero *Bacillus*. De acordo com o laudo técnico, as amostras foram coletadas de uma carcaça de bovino em estado inicial de decomposição. Durante o exame clínico, o médico veterinário observou a carcaça inchada, presença de sangue escuro e não coagulado escorrido pela boca, narinas e ânus. Mediante as informações levantadas, o profissional suspeitou que um agente bacteriano acometia o animal. Em seguida, ele coletou amostras de sangue periférico e de secreções para uma possível identificação do agente patológico. De acordo com o técnico laboratorial, as amostras (sangue e secreções) estavam identificadas e acondicionadas adequadamente.

Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Com relação ao gênero *Bacillus* do agente patológico suspeito, cite

as espécies bacterianas de interesse veterinário e suas doenças ou consequências da infecção.

- Cite as principais características dos agentes bacterianos pertencentes ao gênero *Bacillus*.



Lembre-se

O teste da maleína é um método eficaz para a confirmação da suspeita na triagem de animais que estiveram em contato com a bactéria. A maleína é injetada intradermicamente abaixo da pálpebra inferior, o resultado será positivo quando ocorrer aumento do volume e descarga ocular purulenta após 24 horas.

Resolução da situação-problema

Em continuidade com o relato de caso, como se suspeitava de um agente bacteriano, o técnico laboratorial procedeu com a técnica de cultivo em placas de Petri contendo ágar glicerol e ágar MacConkey (submetidos a 37°C e 42°C por 24 a 48 horas) e teste bioquímicos. Os resultados evidenciaram colônias brancas e lisas, ausência de hemólise e odor, além de que não houve crescimento na placa que foi submetida a 42°C. O teste bioquímico foi positivo para glicose e negativo para oxidase, lactose e sacarose. Os resultados evidenciaram positivo para o agente bacteriano *Burkholderia mallei*, causador da doença do mormo.

- Com relação ao gênero *Burkholderia*, cite as espécies bacterianas de interesse veterinário e suas doenças ou consequências da infecção.

Burkholderia mallei: Equinos (humanos e carnívoros são suscetíveis): causa a doença do mormo; *Burkholderia pseudomallei*: Várias espécies de animais (humanos são suscetíveis): causa a doença de melioidose.

- Cite os procedimentos e técnicas de diagnóstico para detecção dos agentes bacterianos pertencentes ao gênero *Burkholderia*.

As amostras devem ser manipuladas em capela de biossegurança. Como material de análise, coleta-se descarga de tecidos afetados, abscessos e sangue. A *Burkholderia mallei* cresce em meios contendo 1% de glicerol e em meio ágar MacConkey (37°C por dois a três dias). Já a *Burkholderia pseudomallei* cresce em meios com ágar-sangue e ágar MacConkey (37°C por 24 a 48 horas). Para identificação dos isolados, observa-se a morfologia da colônia, odor e características bioquímicas. Para diferenciação da *Burkholderia pseudomallei* e *Burkholderia mallei*, deve-se observar características de motilidade, crescimento em meio com citrato, redução de nitrato em nitrogênio gasoso e crescimento em

temperatura de 42°C. Sorologicamente, a doença do mormo é diagnosticada com auxílio do teste de fixação de complemento. Para fins de comércio internacional de animais, aplica-se o teste de fixação de complemento e o teste ELISA. O teste intradermopalpebral da maleína indica a infecção, o qual tem sido utilizado para erradicação do mormo.

Faça valer a pena

1. O gênero *Bacillus* apresenta mais de 50 espécies, dentre as quais, os agentes de interesse veterinário são:

Assinale a alternativa correta:

- a) *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus larvae*.
- b) *Bacillus anthracis*, *Burkholderia mallei*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus larvae*.
- c) *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* e *Burkholderia pseudomallei*.
- d) *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Burkholderia mallei* e *Bacillus larvae*.
- e) *Bacillus anthracis*, *Burkholderia pseudomallei*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus larvae*.

2. Distribuídos amplamente no meio ambiente, as espécies de *Bacillus* produzem endósporos, favorecendo sua sobrevivência no solo por mais de 50 anos. A presença de fatores de virulência como a cápsula e a toxina do edema são importantes na virulência e sobrevivência da bactéria. Com relação às características do gênero *Bacillus*, é correto afirmar:

Assinale a alternativa correta:

- a) São agentes virais.
- b) São microrganismos Gram-positivos.
- c) Não produzem esporos.
- d) São bastonetes imóveis.
- e) São microrganismo anaeróbios estritos.

3. A doença está presente no mundo inteiro, sendo que os animais ruminantes são mais suscetíveis, enquanto que suínos e equinos

são moderadamente suscetíveis. Presentes no ambiente, esses microrganismos produzem endósporos altamente resistentes, o que é favorável para sua disseminação. Com relação aos agentes pertencentes ao gênero *Bacillus*, é correto afirmar:

I. São microrganismos Gram-negativos, anaeróbios facultativos e aeróbios e crescem em meios não enriquecidos.

II. A presença de cápsula causa lesões hemorrágicas em múltiplos órgãos e suprime a agregação plaquetária induzida pela trombina e coagulação.

III. As carcaças de animais infectados apresentam inchaço, não exibem *rigor mortis* e presença de sangue escuro e não coagulado escorrido pela boca, narinas e ânus.

IV. Não se recomenda abrir a carcaça de animais infectados, a fim de evitar contaminação ambiental.

V. A formação de endósporos é o fator mais importante na persistência e na disseminação do *Bacillus anthracis*.

Assinale a alternativa correta:

- a) Somente as afirmativas II, IV e V são corretas.
- b) Somente as afirmativas I, II e IV são corretas.
- c) Somente as afirmativas II, III e V são corretas.
- d) Somente as afirmativas I, III e IV são corretas.
- e) Somente as afirmativas III, IV e V são corretas.

Seção 3.4

Classificação das bactérias III

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção estudaremos os gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Clostridium*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Leptospira*, *Brucella*, *Pasteurella* e *Pseudomonas* e as principais doenças de importância na Medicina Veterinária.

Para melhor compreender o conteúdo abordado, vamos acrescentar informações na situação-problema referente ao relato de caso apresentado no item *Convite ao Estudo*, dessa forma, você participará indiretamente na resolução do caso.

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do Hospital Veterinário recebeu amostras para diagnóstico laboratorial. Anexo às amostras, o médico veterinário encaminhou um laudo técnico contendo informações detalhadas do atendimento clínico e indicando a suspeita de um agente bacteriano pertencente ao gênero *Brucella*. De acordo com o laudo técnico, o proprietário relatou a ocorrência de um aborto após o quinto mês de gestação do animal. Durante o exame clínico, o médico veterinário não observou sinais clínicos evidentes. Em seguida, foram coletadas amostras de sangue do animal que abortou e de vacas em lactação para serem analisadas em laboratório. De acordo com o técnico laboratorial, as amostras (sangue) estavam identificadas e acondicionadas adequadamente.

Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Cite as principais espécies do gênero *Brucella*.
- Descreva as características dos microrganismos pertencentes ao gênero *Brucella*.
- Cite dois métodos sorológicos utilizados no diagnóstico da brucelose.

Não pode faltar

Prezado aluno, a partir desta seção, vamos começar a estudar os gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Listeria*, *Clostridium*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Leptospira*, *Brucella*, *Pasteurella* e *Pseudomonas* e as principais doenças de importância na Medicina Veterinária. Vamos lá!

Gênero *Staphylococcus*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* são Gram-positivos, imóveis, anaeróbicos facultativos, com oxidase-negativa e catalase-positiva. A principal diferenciação entre as espécies desse gênero é a partir da síntese da coagulase. Essa diferenciação é importante para a caracterização de espécies que apresentam infecção (coagulase-negativa) e são toxigênicas (coagulase-positiva). Não são formadores de esporos, porém sobrevivem em objetos inanimados e ambientes inóspitos por longo período de tempo.

Diagnóstico: arranjos de estafilococos podem ser observados em esfregaços com pus, quando corados apropriadamente. Isolamento bacteriano em meio ágar-sangue, ágar-sangue seletivo e ágar MacConkey (37°C por 24 a 48 horas). Como critério de identificação, observa-se: características da colônia, presença ou ausência de hemólise, ausência de crescimento no meio ágar MacConkey, produção de catalase, coagulase e perfil bioquímico.



Assimile

Os estafilococos são bactérias piogênicas que causam lesões supurativas em animais infectados.

Gênero *Streptococcus*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Streptococcus* são classificados como cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, imóveis e com catalase-negativa. A diferenciação entre as espécies do gênero *Streptococcus* é baseada no tipo de hemólise, no agrupamento de Lancefield e em testes bioquímicos. Os estreptococos produtores de alfa-hemólise são menos patogênicos do que aqueles beta-hemolíticos.

Diagnóstico: amostras contendo agentes suspeitos devem ser rapidamente cultivados, pois as espécies são altamente suscetíveis à dessecação. Isolamento bacteriano em meio de cultura; esfregaço; reação em cadeia da polimerase; testes da catalase; agrupamento Lancefield e testes bioquímicos. Como critério de identificação, observa-se: colônias pequenas e translúcidas (algumas mucoides),

hemólise em ágar-sangue, cadeias de cocos Gram-positivos, ausência de crescimento em ágar MacConkey (exceção da *E. Faecalis*) e catalase-negativa.

Gênero *Corynebacterium*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Corynebacterium* estão classificados como Gram-positivos e são morfológicamente corineformes. Esses microrganismos não produzem esporos, são catalase-positiva, oxidase-negativa, anaeróbia facultativa, são imóveis e necessitam de meios enriquecidos para o seu crescimento. A diferenciação das corinebactérias é baseada na morfologia, aparência da colônia, reações bioquímicas e pelo teste de hemólise (*Corynebacterium pseudotuberculosis*). Esses microrganismos são em sua maioria oportunista, com exceção do *Corynebacterium bovis*.

Diagnóstico: utiliza-se amostras de tecidos afetados, pus, exsudato e urina. Isolamento bacteriano em meio de cultura. Como critério de identificação, observa-se: presença ou ausência de hemólise, características das colônias e pleomorfismo corineforme. Testes bioquímicos e específicos (*Corynebacterium renale*) e teste de intensificação da hemólise (*Corynebacterium pseudotuberculosis*).

Gênero *Listeria*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Listeria* estão classificados como bacilos Gram-positivos, crescem em meios não enriquecidos e em temperatura variável de 4 a 45°C. Esses microrganismos são móveis, anaeróbios facultativos, com catalase-positiva e oxidase-negativa. A diferenciação entre as espécies é baseada na hemólise em ágar-sangue, no teste de CAMP e a produção de ácido a partir de açúcares. Kits bioquímicos e fagotipagem podem ser utilizados para diferenciação das espécies bacterianas.

Diagnóstico: amostras dependem da forma da doença: a) sinais neurológicos: fluido cefalorraquidiano e tecidos da medula; b) aborto: cotilédones, descargas uterinas e conteúdo abomasal do feto; c) septicemia: fígado ou baço. Testes e métodos: isolamento bacteriano; imunofluorescência; exame histopatológico; teste da catalase e teste de CAMP. Como critérios de identificação, observa-se: colônias pequenas, lisas e planas de coloração azul-esverdeada; catalase-positiva; CAMP-positivo; e isolados incubados em caldo apresentam motilidade rotativa.

Gênero *Clostridium*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Clostridium* são bacilos (retos ou levemente curvos) Gram-positivos e requerem meios enriquecidos para o crescimento. Possuem flagelos peritríqueos, são móveis (exceto *Clostridium perfringens*), com catalase-negativa, oxidase-negativa, produzem endósporos e a maioria das espécies patogênicas são anaeróbias estritas (algumas são

aerotolerantes). A diferenciação entre as espécies pode ser baseada no tamanho, forma e localização dos endósporos; cromatografia gás-líquido (identificação de ácidos orgânicos); testes bioquímicos e métodos de neutralização das toxinas.

Diagnóstico: a) Tétano: sinais clínicos, diferenciação de intoxicação por estricnina, esfregaços de lesões corados pelo método de Gram, cultivo em anaerobiose a partir de tecido necrótico de feridas e demonstração de neurotoxina circulante; b) Botulismo: sinais clínicos, histórico de acesso a alimentos contaminados, demonstração da toxina no soro de animais infectados e detecção de genes que codificam a toxina do *Clostridium botulinum* pelo método de reação em cadeia da polimerase; testes de neutralização de toxinas e identificação de toxinas em restos de alimentos; c) Clostrídios histotóxicos: técnicas de anticorpos fluorescentes, cultivo em ágar-sangue para *Clostridium perfringens* (tipo A), teste de CAMP-positivo e reação de nagler; d) Clostrídios enteropatogênicos: sinais clínicos, achados post-mortem, esfregaços diretos da mucosa ou de conteúdo do intestino delgado, teste de neutralização de toxinas (inoculação de camundongos ou cobaias), ELISA para detectar toxinas e glicosúria (rim polposo).

Gênero *Mycobacterium*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Mycobacterium* são classificados como bacilos (ácidos resistentes) Gram-positivos, aeróbios, imóveis e não formadores de esporos. Embora sejam classificados como Gram-positivos, a presença do ácido micólico e de lipídeos na parede celular impedem a entrada de corantes pela técnica de Gram. Para diferenciação das espécies bacterianas é preciso se ater às características culturais, testes bioquímicos, análises cromatográficas, técnicas moleculares, inoculação em animais e a técnica de coloração de Ziehl-Neelsen.

Diagnóstico: a) Tuberculose bovina: prova da tuberculina intradérmica (teste cervical intradérmico único e o teste cervical intradérmico comparativo); teste com base no sangue (ensaio interferon-gama e ELISA para detecção de anticorpos circulantes); isolamento de *Mycobacterium bovis* (descontaminação de outras espécies) em meios a base de ovos ou de ágar enriquecidos com soro ou sangue (mais de 12 semanas podem ser necessárias para o crescimento); critérios de identificação (aparência, taxa de crescimento, temperatura, pigmentação das colônias, coloração Ziehl-Neelsen-positivas, técnicas bioquímicas, analíticas e moleculares); b) Tuberculose em frangos e outras espécies: amostras para microscopia direta (raspagens, biópsia do reto por punção), cultura (fezes), testes sorológicos (soro), *post-mortem* (tecidos infectados e linfonodos regionais), esfregaços corados pela técnica de Ziehl-Neelsen e PCR. Critérios de identificação (colônias menores que 1mm e colônias Ziehl-Neelsen-positivas).



Refleta

A tuberculose em bovinos é causada pelo *Mycobacterium bovis*, sua transmissão ocorre principalmente por aerossóis gerados por animais infectados.

Gênero *Mycoplasma*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Mycoplasma* são pleomórficos, anaeróbios facultativos, não se coram pelo método de Gram e requerem meios enriquecidos para o seu crescimento. Esses microrganismos possuem uma tripla camada de membrana externa flexível, porém não possuem uma parede celular rígida. A diferenciação entre eles é baseada pela especificidade ao hospedeiro, requerimentos para colesterol, morfologia da colônia, por reações bioquímicas e métodos sorológicos.

Diagnóstico: as amostras para exame laboratorial incluem raspados da mucosa, exsudato traqueal, aspirados, tecido pulmonar, leite de mastite e fluidos das articulações, as quais devem ser entregues sob refrigeração em um período de 48 horas. Testes e métodos: reação em cadeia da polimerase; imunológicos; sorológicos (teste de fixação do complemento, testes de aglutinação rápida, testes de inibição da hemaglutinação); isolamento bacteriano (10% de CO₂, atmosfera úmida, 37°C por 14 dias). Critérios de identificação: microcolônias no formato de ovo frito, requerimentos de colesterol para crescimento, tamanho das microcolônias, perfil bioquímico etc.



Vocabulário

Bactéria Gram-negativa: refere-se a bactéria que perde a cor do cristal violeta na descoloração por álcool; ela se cora de vermelho após tratamento com safranina.

Bactéria gram-positiva: refere-se a bactéria que retém a cor do cristal violeta após descoloração por álcool; ela se cora de púrpura-escuro.

Sorovar: refere-se a uma variação dentro de uma espécie, também denominado de sorotipo.

Gênero *Leptospira*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Leptospira* possuem morfologia espiralada com extremidades no formato de gancho, são Gram-negativos (porém não se coram bem com corantes convencionais), são móveis, possuem flagelo

ligado à parede celular em cada extremidade do microrganismo, possui membrana externa, parede celular e a maioria requer meios especializados. A visualização é auxiliada com microscópio de campo escuro. A diferenciação entre as espécies pode ser mediada por análises sorológicas, atualmente, também ocorre pela homologia no DNA.

Diagnóstico: Em amostras de urina fresca é possível identificar o microrganismo com o auxílio de microscopia de campo escuro. No sangue, pode-se identificar o microrganismo nos sete primeiros dias e na urina, nas duas semanas após a infecção inicial. O isolamento bacteriano requer meios especializados, utiliza-se meio-base EMJH com 1% de albumina de soro bovino e Tween 80. Para identificação de isolados, é analisado o perfil de DNA e a sorologia. Em tecidos (rins, fígado e pulmões), têm sido utilizado métodos de anticorpos fluorescentes e testes sorológicos (teste de aglutinação microscópica).

Gênero *Brucella*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Brucella* são cocobacilos Gram-negativos e imóveis. Esses microrganismos são aeróbios, capnofílicas, catalase-positiva, oxidase-positiva (exceção da *Brucella ovis* e da *Brucella neotomae*), uréase-positiva (exceção *Brucella ovis*). A diferenciação entre as espécies de *Brucella* é baseada pelas características das colônias, testes bioquímicos, inibição de crescimento por corantes, requerimentos específicos em culturas e, para identificação definitiva, aplica-se a técnica de aglutinação com soro mono específico.

Diagnóstico: o diagnóstico se baseia em testes sorológicos, isolamento e identificação do microrganismo. Amostras de cotilédones, abomaso fetal e secreção uterina podem ser utilizados em esfregaços corados pelo método Ziehl-Neelsen-modificado. Isolamento e identificação de *Brucella abortus* é confirmatório. Critérios de identificação: aparência das colônias, microrganismos pela técnica de Ziehl-Neelsen-modificado-positivo, atividade uréase, biotipagem e aglutinação de células bacterianas com antissoros; testes intradérmicos (Brucelina); diagnóstico sorológico (rosa-de-bengala, soroaglutinação lenta com 2-mercaptoetanol); ensaio de imunoabsorção enzimática; ensaio homogêneo de fluorescência polarizada; fixação de complemento e métodos moleculares (PCR).



Exemplificando

A brucelose bovina é causada pela bactéria *Brucella abortus*, a transmissão ocorre principalmente pela ingestão do microrganismo, porém a infecção pode ocorrer pelo contato venéreo, inalação, penetração em lesões presentes na pele ou por transmissão

transplacentária. A brucelose bovina causa aborto, orquite e pode ser excretada pelo leite.

Gênero *Pasteurella*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Pasteurella* são pequenos bacilos Gram-negativos, anaeróbios facultativos, imóveis, são oxidase-positivos, a maioria das espécies são catalase-positiva e crescem em meios não-enriquecidos. A diferenciação entre as espécies se baseia nas características coloniais, no crescimento das colônias, em reações bioquímicas, sorotipagem e biotipagem.

Diagnóstico: esfregaços podem ser corados pelo método de Giemsa ou pelo de Leishman. Para o isolamento bacteriano utiliza-se o meio ágar-sangue e ágar MacConkey. Para seleção da *Pasteurella* multocida pode-se utilizar neomicina, bacitracina e actidiona. Como critério de identificação, observa-se as características coloniais, crescimento em ágar MacConkey, teste positivo para oxidase e perfil bioquímico.

Gênero *Pseudomonas*

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Pseudomonas* são bastonetes Gram-negativos, aeróbios, possuem parede celular circundada por uma cápsula, possuem flagelos polares e são móveis. A diferenciação entre as espécies é baseada nas características bioquímicas das colônias, na temperatura de crescimento (42°C), produção de oxidase, positivo para oxidação de glicose, negativo para oxidação de lactose e sacarose e muitas espécies produzem pigmentos em meios sem corantes – ágar-nutriente. Pigmentos produzidos por *Pseudomonas aeruginosa*: piocianina (verde-azulado), pioverdina (amarelo-esverdeado), piorubina (vermelho) e piomelanina (marrom-escuro).

Diagnóstico: para isolamento bacteriano, utiliza-se ágar-sangue e ágar MacConkey. Como critério de identificação incluem a morfologia da colônia, odor característico (semelhante à uva), produção de piocianina (azul-esverdeado), lactose-negativa, colônias descoradas em meio ágar MacConkey, perfil bioquímico e oxidase-positivo.

Principais doenças de importância na Medicina Veterinária

Gênero *Staphylococcus*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Staphylococcus aureus* (bovinos: mastite e impetigo no úbere; ovinos: mastite, piemia pelo carrapato, foliculite benigna e dermatite; caprinos: mastite e dermatite; suínos: botriomicose da glândula mamária e impetigo na glândula mamária; equinos: cordão escurro e mastite; cães e gatos: condições

supurativas; aves domésticas: artrite e septicemia em perus, pododermatite ulcerativa e onfalite em aves recém-eclodidas); *Staphylococcus intermedius* (cães: pioderma, endometrite, cistite, otite externa e condições supurativas; gatos: diversas complicações piogênicas; bovinos: raramente mastite); *Staphylococcus hyicus* (suínos: epidermite exsudativa, artrite; bovinos: raramente mastite); *Staphylococcus aureus*, subespécie *anaerobius* (ovinos: linfadenite); *Staphylococcus schleiferi* subespécie *coagulans* (cães: otite externa).

Gênero *Streptococcus*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Streptococcus pyogenes* (humanos: febre escarlate, infecções na garganta e febre reumática); *Streptococcus agalactiae* (bovinos, ovinos e caprinos: mastite crônica; humanos e cães: septicemia neonatal); *Streptococcus dysgalactiae* (bovinos: mastite aguda; cordeiros: poliartrite); *Streptococcus equisimilis* (equinos: abscessos, endometrite e mastite; suínos, bovinos, cães e pássaros: condições supurativas); *Streptococcus equi* (equinos: garrotilho, púrpura hemorrágica e condições supurativas); *Streptococcus zooepidemicus* (equinos: mastite, pneumonia e infecções no umbigo; bovinos, cordeiros, suínos e aves domésticas: condições supurativas e septicemia); *Enterococcus faecalis* (diversas espécies animais: condições supurativas); *Streptococcus suis* (suínos: septicemia, meningite, artrite e broncopneumonia; bovinos, ovinos, equinos e gatos: condições supurativas; humanos: septicemia e meningite); *Streptococcus porcinus* (suínos: linfadenite submandibular); *Streptococcus canis* (animais carnívoros: septicemia neonatal, condições supurativas e síndrome do choque tóxico); *Streptococcus uberis* (bovinos: mastite); e *Streptococcus pneumoniae* (porcos da Índia: pneumonia; humanos e primatas: pneumonia, septicemia e meningite).

Gênero *Corynebacterium*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Corynebacterium bovis* (bovinos: mastite subclínica); *Corynebacterium kutscheri* (roedores de laboratório: abscessos superficiais, focos caseopurulentos no fígado, pulmão e nos linfonodos); *Corynebacterium pseudotuberculosis* (biótipo redutor de nitrato em ovinos e caprinos: linfadenite caseosa; biótipo não redutor de nitrato, equinos e bovinos: linfangite ulcerativa e abscessos); *Corynebacterium renale* tipo I (bovinos, ovinos e caprinos: cistite, pielonefrite e balanopostite ulcerativa); *Corynebacterium pilosum* tipo II (bovinos: cistite e pielonefrite); *Corynebacterium cystitidis* tipo III (bovinos: cistite grave e, raramente, pielonefrite); *Corynebacterium ulcerans* (bovinos: mastite).

Gênero *Listeria*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Listeria monocytogenes* (ovinos, bovinos e caprinos: encefalite na forma

nervosa, aborto, septicemia e endoftalmite na forma ocular; cães, gatos e equinos: aborto, septicemia e encefalite; suínos: aborto, septicemia e encefalite; bovinos: raramente causa mastite; pássaros: septicemia); *Listeria ivanovii* (ovinos e bovinos: aborto); e *Listeria innocua* (ovinos: raramente ocorre meningoencefalite).

Gênero *Clostridium*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Clostridium tetani* (várias espécies: um tipo antigênico, causa o tétano e espasmos musculares); *Clostridium botulinum* (várias espécies: oito toxinas classificadas em “tipo de A a G”, causa o botulismo e paralisia flácida); *Clostridium chauvoei* (bovinos e ovinos: carbúnculo sintomático); *Clostridium septicum* (bovinos, suínos e ovinos: edema maligno; ovinos: abomasite e febre carbuncular); *Clostridium novyi* Tipo A (carneiros jovens: cabeça inchada e infecções em feridas); *Clostridium perfringens* tipo A (frangos: enterite necrótica; suínos: enterocolite necrosante e gangrena gasosa; caninos: gastroenterite hemorrágica), tipo B (cordeiros: disenteria; bezerros e potros: enterite hemorrágica); tipo C (ovinos adultos: enterotoxemia “struck”; caprinos e bovinos: morte súbita; frangos: enterite necrótica; suínos recém-nascidos: enterite hemorrágica); tipo D (ovinos: doença do rim polposo; bezerros, caprinos adultos e cabritos: enterotoxemia); tipo E (bezerros: enterite hemorrágica; coelhos: enterite); *Clostridium sodellii* (bovinos, ovinos e equinos: miosite; cordeiros: abomasite); *Clostridium novyi* tipo B (ovinos: hepatite necrótica infecciosa “doença negra”; bovinos: ocasionalmente, hepatite necrótica infecciosa); e *Clostridium haemolyticum* (bovinos: hemoglobinúria bacilar; ovinos: ocasionalmente, ocorre hemoglobinúria bacilar).

Gênero *Mycobacterium*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Mycobacterium tuberculosis* (principalmente humanos e primatas em cativeiro e, ocasionalmente, cães, gatos, psitacídeos e canários: causa tuberculose); *Mycobacterium bovis* (principalmente bovinos e, ocasionalmente, veados, gambás, texugos, humanos, gatos e outras espécies de mamíferos: tuberculose); *Mycobacterium avium* (principalmente espécies aviárias (exceto psitacídeos) e, ocasionalmente, suínos e bovinos: tuberculose (bovinos infectados com o *Mycobacterium avium* apresentam sensibilidade à tuberculina); *Mycobacterium microti* (principalmente ratos silvestres e, ocasionalmente, mamíferos: tuberculose); *Mycobacterium marinum* (principalmente peixes e, ocasionalmente, humanos, mamíferos aquáticos e anfíbios: tuberculose); *Mycobacterium leprae* (principalmente humanos e, ocasionalmente, tatus e chimpanzés: lepra); *Mycobacterium lepramurium* (principalmente ratos e camundongos e, ocasionalmente, gatos: lepra murina e lepra felina); *Mycobacterium avium* e subespécie paratuberculosis (principalmente bovinos, ovinos, caprinos, veados e, ocasionalmente, demais ruminantes: paratuberculose ou doença de Johne).



Pesquise mais

Leia mais sobre o tema no seguinte artigo:

RUGGIERO, A. P. et al. Tuberculose bovina: alternativas para o diagnóstico. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 1, p. 55-65, jan./mar. 2007. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v74_1/ruggiero.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2016.

Gênero *Mycoplasma*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Mycoplasma mycoides* (bovinos: pleuropneumonia contagiosa); *Mycoplasma bovis* (bovinos: mastite, pneumonia e artrite); *Mycoplasma agalactia* (ovinos e caprinos: agalactia contagiosa); *Mycoplasma capricolum* subespécie *capripneumoniae* (caprinos: pleuropneumonia contagiosa); *Mycoplasma capricolum* subespécie *capricolum* (ovinos e caprinos: septicemia, mastite, poliartrite e pneumonia); *Mycoplasma mycoides* subespécie *mycoides* (caprinos e ovinos: pleuropneumonia, mastite, septicemia e poliartrite); *Mycoplasma mycoides* subespécie *capri* (caprinos: septicemia, pleuropneumonia, artrite e mastite); *Mycoplasma hyopneumoniae* (suínos: pneumonia enzoótica); *Mycoplasma hyorhinis* (suínos jovens: poliserosite); *Mycoplasma gallisepticum* (frangos e perus: doença respiratória crônica e sinusite infecciosa); *Mycoplasma synoviae* (aves domésticas: sinovite infecciosa); e *Mycoplasma meleagridis* (perus: aerossaculite, deformidades ósseas, eclosão e redução na taxa de crescimento).

Gênero *Leptospira*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Leptospira borgpetersenii sorovar hardjo* e *Leptospira interrogans sorovar hardjo* (bovinos e ovinos: abortos, natimortos e agalactia; humanos: gripe semelhante à influenza e, ocasionalmente, doença hepática ou renal); *Leptospira borgpetersenii sorovar tarassovi* (suínos: falência reprodutiva, abortos e natimortos); *Leptospira interrogans sorovar bratislava* (suínos, equinos e cães: abortos, natimortos e falha reprodutiva); *Leptospira interrogans sorovar canicola* (cães e suínos: doença renal crônica em animais adultos, abortos, natimortos, nefrite aguda em filhotes e doença renal em suínos jovens); *Leptospira interrogans sorovar grippityphosa* (bovinos, suínos e cães: abortos e doença septicêmica em animais jovens); *Leptospira interrogans sorovar icterohaemorrhagiae* (bovinos, ovinos, suínos, cães e humanos: doença septicêmica aguda em animais jovens, abortos, hepatite com icterícia e doença hemorrágica superaguda); *Leptospira interrogans sorovar pomona* (bovinos e ovinos: doença hemolítica aguda em animais jovens e abortos; suínos: septicemia em leitões, falência reprodutiva e abortos; e equinos: abortos e oftalmia periódica).

Gênero *Brucella*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Brucella abortus* (principalmente em bovinos: aborto e orquite; ocasionalmente em ovinos, caprinos e suínos: aborto; equinos: bursite; humanos: febre intermitente e doença sistêmica); *Brucella melitensis* (principalmente em caprinos e ovinos: aborto, orquite e artrite; ocasionalmente em bovinos: aborto e brucelas no leite; humanos: febre de Malta e doença sistêmica grave); *Brucella susis* (principalmente em suínos: aborto, artrite, orquite, infertilidade e espondilite; ocasionalmente em humanos: febre intermitente e doença sistêmica); *Brucella ovis* (principalmente ovinos: epididimite e aborto); e *Brucella canis* (principalmente em cães: epididimite, aborto, discoespondilite e esterilidade em machos; ocasionalmente em humanos: doença sistêmica moderada).

Gênero *Pasteurella*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Pasteurella multocida* tipo A (bovinos: pasteurelose pulmonar bovina, conhecida como febre do transporte, associada ao complexo de pneumonia enzoótica de bezerras e, raramente, mastite; ovinos: mastite e pneumonia; suínos: rinite atrófica e pneumonia; aves domésticas: cólera aviária; coelhos: espirros e corrimento nasal; demais espécies animais: pneumonia após estresse); tipo B (bovinos e búfalos: septicemia hemorrágica); tipo D (suínos: rinite atrófica e pneumonia); tipo E (bovinos e búfalos: septicemia hemorrágica); *Pasteurella haemolytica* biótipo A (bovinos: pasteurelose pulmonar bovina, conhecida como febre do transporte; ovinos: septicemia em animais jovens, pneumonia e mastite gangrenosa); *Pasteurella trehalosi* ou *Pasteurella haemolytica* biótipo T (ovinos: septicemia).

Gênero *Pseudomonas*

Os principais microrganismos de importância veterinária e suas condições clínicas: *Pseudomonas aeruginosa* (bovinos: mastite, pneumonia, metrite, dermatite e enterite em bezerras; suínos: infecções respiratórias e otite; equinos: pneumonia, infecções no trato genital, ceratite ulcerativa; ovinos: podridão da lã, mastite, pneumonia e otite média; cães e gatos: cistite, otite externa, pneumonia e ceratite ulcerativa; mustelídeos: septicemia e pneumonia hemorrágica; chinchilas: pneumonia e septicemia; répteis em cativeiro: estomatite necrótica).



Faça você mesmo

Pesquise mais sobre a patogenia e sinais clínicos das doenças que estudamos nesta seção. Consulte os materiais de apoio:

FLORES, E. F. **Virologia veterinária**: virologia geral e doenças víricas. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2012.

Quinn, P. J. et. al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2005.

Sem medo de errar

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os pontos que foram analisados anteriormente na situação-problema. O laboratório tem como objetivo prestar serviços aos profissionais da área veterinária, a fim de identificar agentes patológicos utilizando diferentes métodos de diagnósticos para auxiliar na resolução de casos clínicos.

Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para a resolução do caso clínico:

- Cite as principais espécies do gênero *Brucella*.

Os principais microrganismos do gênero *Brucella* são: *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella ovis*, *Brucella canis* e *Brucella neotomae*.

- Descreva as características dos microrganismos pertencentes ao gênero *Brucella*.

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Brucella* são cocobacilos Gram-negativos e imóveis. Esses microrganismos são aeróbios, capnófilas, catalase-positiva, oxidase-positiva (exceção de *Brucella ovis* e de *Brucella neotomae*) e uréase-positiva (exceção *Brucella ovis*).

- Cite dois métodos sorológicos utilizados no diagnóstico da brucelose.

Dois métodos de diagnóstico sorológico são: rosa-de-bengala e soroaglutinação lenta com 2-mercaptoetanol.



Atenção

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Brucella* são cocobacilos Gram-negativos e imóveis. Esses microrganismos são aeróbios, capnófilas, catalase-positiva, oxidase-positiva (exceção da *Brucella ovis* e da *Brucella neotomae*), uréase-positiva (exceção *Brucella ovis*).

Avançando na prática

Tuberculose em bovinos

Descrição da situação-problema

Recentemente, um médico veterinário foi solicitado para realizar o atendimento clínico em uma propriedade leiteira. O proprietário solicitou que ele realizasse a prova da tuberculina intradérmica de quatro vacas leiteiras que estava adquirindo. Durante o exame clínico dos animais, o médico veterinário não constatou sinais clínicos característicos da doença. Os animais foram submetidos ao teste de tuberculinização cervical simples. Os resultados foram negativo para três animais e inconclusivo para um animal. Em seguida, o profissional submeteu os animais ao teste intradérmico cervical comparativo, o qual resultou em positivo. Por isso, ele informou ao Serviço Oficial Veterinário a existência de um animal positivo para tuberculose. Em seguida, amostras de sangue foram coletadas e encaminhadas para análise em laboratórios credenciados pelo Serviço Oficial Veterinário.

Mediante as informações apresentadas e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda às questões para auxiliar na resolução do caso clínico.

- Qual é a espécie bacteriana que está causando a tuberculose nos bovinos leiteiros?
- Qual é o procedimento para diferenciação de espécies bacterianas pertencentes ao gênero *Mycobacterium*?
- Quais são as características das espécies bacterianas pertencentes ao gênero *Mycobacterium*?
- Cite os testes realizados para a identificação de animais.
- Quais são as características dos meios utilizados para o cultivo do microrganismo causador da tuberculose bovina?



Lembre-se

Com relação aos microrganismos do gênero *Mycobacterium*, embora sejam classificados como Gram-positivos, a presença do ácido micólico e de lipídeos na parede celular impedem a entrada de corantes pela técnica de Gram.

Resolução da situação-problema

Em continuidade com o relato de caso, o Serviço Oficial Veterinário já havia indicado positivo para o animal e procedeu com as medidas em conformidade com a Lei. No laboratório, o técnico procedeu com a técnica adequada para o agente suspeito. As amostras foram descontaminadas para permitir o crescimento do *Mycobacterium bovis*. Em seguida, a amostra foi cultivada em meio ágar enriquecido com sangue em tubo inclinado a 37°C. A presença do agente bacteriano se confirmou com 27 dias de incubação. Os resultados evidenciaram a presença da bactéria *Mycobacterium bovis*.

- Qual é a espécie bacteriana que está causando a tuberculose nos bovinos leiteiros?

O agente causador da tuberculose em bovinos é a bactéria *Mycobacterium bovis*.

- Qual é o procedimento para diferenciação de espécies bacterianas pertencentes ao gênero *Mycobacterium*?

A diferenciação das espécies bacterianas se baseia nas características culturais, testes bioquímicos, análises cromatográficas, técnicas moleculares, inoculação em animais e a técnica de coloração de Ziehl-Neelsen.

- Quais são as características das espécies bacterianas pertencentes ao gênero *Mycobacterium*?

Os microrganismos pertencentes ao gênero *Mycobacterium* são classificados como bacilos (ácidos resistentes) Gram-positivos, aeróbios, imóveis e não formadores de esporos.

- Cite os testes realizados para identificação de animais.

Prova da tuberculina intradérmica (teste intradérmico cervical único e teste intradérmico cervical comparativo).

- Quais são as características dos meios utilizados para o cultivo do microrganismo causador da tuberculose bovina?

O isolamento do *Mycobacterium bovis* (descontaminação de outras espécies) dever ser realizado em meios a base de ovos ou de ágar enriquecidos com soro ou sangue (mais de 12 semanas podem ser necessárias para o crescimento).

Faça valer a pena

1. Os microrganismos pertencentes ao gênero *Staphylococcus* acometem uma ampla variedade de animais, causando desde infecções localizadas, como mastite em bovinos e otite externa em cães, até quadros de septicemia. Com relação às características dos agentes bacterianos pertencentes ao gênero *Staphylococcus*, é correto afirmar.

Assinale a alternativa correta:

- a) São microrganismos Gram-positivos.
- b) São microrganismos móveis.
- c) São microrganismos anaeróbios estritos.
- d) São microrganismos oxidase-positiva e catalase negativa.
- e) A principal diferenciação entre as espécies do gênero é a síntese de coagulase.

2. Bovinos leiteiros estão sujeitos a infecções nas glândulas mamárias, como a infecção denominada mastite. Esse processo infeccioso causa grandes prejuízos à produção de leite e ao produtor, podendo ocorrer o descarte do animal infectado, caso não haja um tratamento adequado. O gênero *Streptococcus* possui dois microrganismos causadores da mastite: a bactéria *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus uberis*. Com relação às características dos microrganismos pertencentes ao gênero *Streptococcus*, é correto afirmar:

Assinale a alternativa correta:

- a) São microrganismos que possuem estruturas de bacilus.
- b) São microrganismos anaeróbios estritos.
- c) Não causam hemólise em meio ágar-sangue.
- d) Não crescem em meio ágar MacConkey.
- e) São microrganismos Gram-negativos.

3. Os microrganismos pertencentes ao gênero *Corynebacterium* causam infecções em bovinos (mastite subclínica), ovinos e caprinos (linfadenite caseosa), roedores (abscessos e focos caseopurulentos no fígado, pulmão e linfonodos) e equinos (abscessos e linfangite ulcerativa). Com relação às características dos microrganismos pertencentes ao gênero *Corynebacterium*, é correto afirmar:

- I. São microrganismos Gram-negativos.

II. Morfologicamente são classificados como corineformes.

III. São microrganismos produtores de esporos.

IV. São microrganismos de catalase-positiva.

V. São microrganismos de oxidase-negativa.

Assinale a alternativa correta:

a) Somente as afirmativas II, IV e V são corretas.

b) Somente as afirmativas I, II e IV são corretas.

c) Somente as afirmativas II, III e V são corretas.

d) Somente as afirmativas I, III e IV são corretas.

e) Somente as afirmativas III, IV e V são corretas.

Referências

- ALMEIDA, Sandro. **Ciências farmacêuticas**: micologia. Rio de Janeiro: EGK. 2008.
- ANDREATTI FILHO, Raphael Lúcio. et al. Sorovares de salmonella isolados de materiais avícolas no período de 1994 a 1999. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo v. 4, n. 3, p. 90-101, 2001. Disponível em: <<http://revistas.bvs-vet.org.br/recmvz/article/view/3310/2515>>. Acesso em: 14 jul. 2016.
- CHIARELI, Denise. et al. Controle da leptospirose em bovinos de leite com vacina autógena em Santo Antônio do Monte, Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 7, p. 633-639, jul. 2012. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X20120007000008#title>. Acesso em: 21 ago. 2016.
- ENGELKIRK, P. G. B. **Microbiologia para as ciências da saúde**. 9. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2012.
- FALCÃO, J. P.; FALCÃO, D. P. Importância de *Yersinia enterocolitica* em microbiologia médica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 9-19, set. 2006. Disponível em: <serv-bib.fcfa.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/download/356/341>. Acesso em: 21 ago. 2016.
- FERNANDES, M. C. et al. Surto de mastite bovina causada por linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes aos antimicrobianos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 3, p. 745-748, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61n3/31.pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2016.
- FLORES, E. F. **Virologia veterinária**: virologia geral e doenças víricas. 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2012.
- GREENE, C. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4. ed. São Paulo: Roca, 2015.
- HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: EGK, 2003.
- LUCENA, Ricardo B. et al. Doenças de bovinos no Sul do Brasil: 6.706 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Bahia, v. 30, n. 5, p. 428-434, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v30n5/a10v30n5>>. Acesso em: 21 ago. 2016.
- MATOS, A. V. R. et al. *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157, *Salmonella spp.* e microrganismos indicadores em carcaças bovinas para exportação. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 65, n. 4, p. 981-

988, ago. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352013000400007>.

Acesso em: 21 ago. 2016. MICHAEL T. MADIGAN. **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed Editora, 2010.

PANDEY, Robert. **Microbiologia veterinária: perspectivas clínicas e moleculares**. São Paulo: Roca, 1994.

PEREIRA, Rose; PETRECHEN, Guilherme Grande. Principais métodos diagnósticos bacterianos – Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, ano IX, n. 16, p. 1-12, 2011. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/u94lwYWgePGj05L_2013-6-26-11-11-29.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2016.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. São Paulo: Artmed, 2005.

RUGGIERO, A. P. et al. Tuberculose bovina: alternativas para o diagnóstico. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 1, p. 55-65, jan./mar. 2007. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v74_1/ruggiero.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2016.

SILVA, Fabíola do Nascimento Corrêa et al. Frequência de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* em cães na região metropolitana do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 203-206, out./dez. 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2004000400006>. Acesso em: 21 ago. 2016.

SILVA, Karla P. C. et al. Caracterização fenotípica e molecular de amostras de *Burkholderia mallei* isoladas na Região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 439-444, maio 2009.

SOARES, Cleber O. et al. Borrelioses, agents and vectors: a review. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 1, p. 01-19, jan./mar. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2000000100001>. Acesso em: 21 ago. 2016.

SOUSA, Sebastiana et al. Leptospirose e a infecção de ovinos: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano XII, v. 23, n. 1, p. 1-20, jul. 2014. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/3b2tWyo5eoulkUC_2014-7-27-17-8-33.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2016.

VASCONCELLOS, G. S. F. M.; HAMATY, M. H. R. C.; NASCIMENTO, R. S. **Surtos de salmonelose em produtos de origem aviária**. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia: Universidade de São Paulo, p. 1-23, nov. 2014. Disponível em: <<http://vps.fmvz.usp.br/labmas/wp-content/uploads/2014/08/SURTOS-DE-SALMONELOSE-EM-PRODUTOS-DE-ORIGEM-AVI%C3%81RIA.pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2016

ZAPPA, Vanessa; et al. Mormo em equinos. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça/SP, ano 7, n. 12, jan. 2009. Disponível em: <http://www.faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/nx84WKidH1wD4Os_2013-6-21-11-56-24.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2016.

Micologia geral e especial aplicada à medicina veterinária

Convite ao estudo

Olá, aluno! Seja bem-vindo à Unidade 4 de estudos deste livro didático!

Animais de companhia e de produção estão sujeitos a infecções causadas por fungos. Os agentes fúngicos produzem infecções superficiais, cutâneas ou subcutâneas na pele, nos cabelos ou nas unhas, sem necessariamente ocasionar danos à saúde animal. Animais imunossuprimidos estão mais sujeitos a infecções profundas ou sistêmicas causadas por fungos patogênicos ou oportunistas, que podem comprometer a saúde do animal. Portanto, conhecer os fungos e as suas características morfológicas é de fundamental importância para o médico veterinário em uma sociedade cada vez mais exigente, podendo, dessa forma, aplicar os conhecimentos na prevenção, no controle e no tratamento de doenças fúngicas.

Competência geral

Conhecer os principais microrganismos de interesse em medicina veterinária (bactérias, fungos e vírus), enfocando particularmente a taxonomia, ou seja, as características morfológicas, ecológicas, de sensibilidade, de resistência e de identificação laboratorial.

Competência técnica

Conhecer e compreender as particularidades dos fungos e dos processos infecciosos (por fungos) de importância clínica para a veterinária.

Objetivos

Entre os objetivos desta unidade, o aluno deverá:

- Conhecer a morfologia dos fungos.
- Conhecer o procedimento de identificação dos fungos.

- Identificar fungos filamentosos.
- Conhecer as principais doenças fúngicas de interesse veterinário.
- Conhecer a fisiologia e a identificação de micotoxinas.

Para auxiliar o conteúdo das competências que serão atribuídas nesta unidade, no parágrafo subsequente, apresentaremos uma situação da realidade profissional de um atendimento clínico realizado por um médico veterinário. Nessa situação, aproximaremos os conteúdos teóricos da prática proposta nesta unidade. Leia, com atenção, o atendimento clínico realizado pelo médico veterinário:

O hospital veterinário (HV) da universidade possui uma alta rotina de atendimento clínico, cirúrgico e de análises laboratoriais, atendendo animais de companhia e de produção. Diariamente, o HV de pequenos animais atende, em média, de 10 a 15 animais (cães, gatos, pássaros e animais silvestres), enquanto que o HV de grandes portes atende a uma média de quatro animais (equinos, bovinos, ovinos e suínos). O HV de grandes animais conta com uma equipe de atendimento a campo, que presta serviços clínicos, cirúrgicos e de coleta de material para análises laboratoriais na propriedade rural. Para dar suporte à rotina de atendimento clínico, o HV possui um laboratório de análises clínicas (LAC), que realiza diferentes análises laboratoriais e que também presta serviços para outras clínicas veterinárias. O LAC disponibiliza diversos equipamentos para a identificação de agentes patogênicos, com o objetivo de proporcionar um diagnóstico preciso e rápido. De acordo com o técnico, a demonstração de agentes fúngicos é mediada por exames microscópicos, de cultura (isolamento e identificação) e histopatológico. Mediante a prestação de serviços do LAC, vamos acompanhar as diferentes análises laboratoriais e os seus respectivos casos clínicos.

Vamos começar os estudos?

Mãos à obra e boa sorte!

Seção 4.1

Morfologia e identificação dos fungos

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos a morfologia e os procedimentos para a identificação dos fungos. Para melhor compreender o conteúdo abordado, vamos acrescentar informações à situação-problema referente ao relato apresentado no item *Convite ao estudo*. Dessa forma, você participará indiretamente da resolução do caso:

Recentemente, o hospital veterinário de pequenos animais realizou o atendimento clínico de um cão com aproximadamente 2 anos e meio de idade, que apresentava uma infecção auricular havia 10 dias. Apesar disso, o proprietário relatou que o animal estava em dia com as vacinas. Durante o exame clínico, o médico veterinário confirmou a existência do quadro infeccioso, observando hipersecreção das glândulas ceruminosas (produção excessiva e retenção de cera), exsudato inflamatório e restos necróticos acumulados no canal do ouvido. Também, foi observada uma dermatite seborreica na pele do animal. De acordo com o médico veterinário, nesse caso, o quadro de infecção podia ser decorrente de uma infecção bacteriana ou fúngica e estar associada com a imunossupressão. Em seguida, foram coletadas amostras do exsudato do canal auditivo e realizada raspagem de pele para análise laboratorial.

Mediante as informações apresentadas na situação da realidade profissional, e com auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda aos enunciados, a seguir, para a resolução do caso clínico:

- Com relação aos agentes fúngicos, descreva suas principais características.
- Descreva a estrutura da célula fúngica.

Não pode faltar

Prezado aluno, a partir desta seção, começaremos a estudar a morfologia e os procedimentos para identificação dos fungos. Vamos lá!

Introdução aos estudos dos fungos

A micologia é um ramo da microbiologia que estuda os fungos, os quais são microrganismos celulares eucarióticos que estão classificados no reino *Fungi*. Nele, estão classificadas as leveduras (unicelulares), os bolores ou mofo (pluricelulares) e os cogumelos (espécies macroscópicas). Os fungos são classificados separadamente dos animais, das bactérias e das plantas, em função da presença de quitina e glucanos em sua parede celular. Apesar de estarem relacionados com o desenvolvimento de doenças, os fungos possuem um papel importante na decomposição de resíduos orgânicos (plantas e animais mortos) e na ciclagem de nutrientes. Para manter as funções vitais, os fungos absorvem a matéria orgânica dissolvida através da membrana plasmática e se reproduzem a partir de esporos ou fragmentos de hifas. Além de participarem na decomposição de matéria orgânica, os fungos possuem outras funções importantes, como na produção de alimentos (na fabricação de pães ou no processo de fermentação de cerveja e vinhos), na confecção de medicamentos (na produção de antibióticos) e na fabricação de produtos químicos (na fabricação de detergentes). Entretanto, os fungos patogênicos e oportunistas podem causar infecções em animais e humanos. Os fungos são causadores de infecções superficiais, cutâneas ou subcutâneas na pele, nos cabelos ou nas unhas, sem necessariamente ocasionar danos à saúde animal. Animais imunossuprimidos estão sujeitos a infecções profundas ou sistêmicas causadas por fungos patogênicos ou oportunistas, que podem comprometer sua saúde.



Refleta

Os fungos são microrganismos eucariotas, sendo, as leveduras, unicelulares, e os fungos filamentosos, pluricelulares.

Caracterização morfológica e fisiológica da colônia e da célula fúngica

Os fungos são microrganismos eucariotas, não-fotossintéticos, uni e pluricelulares, quimioheterotróficos (que obtêm nutrientes por absorção), são aeróbios (sendo, muitos, aeróbios estritos), possuem uma parede celular constituída de quitina e polissacarídeos e crescem em um ambiente de pH variando de 5,5 a 6.

Os fungos que apresentam esporos são denominados de telemórficos. Os esporos podem apresentar flagelos (zoósporos) ou não. Os zoósporos apresentam

o grupo filogenético denominado de quitridiomycetos (fungos ancestrais que vivem em meio aquático e solos úmidos). Os esporos ausentes de flagelos apresentam o grupo filogenético zigomicetos (hifas cenocíticas). Ainda nos esporos ausentes de flagelos, há outras duas divisões denominadas de ascósporos, em que está presente o grupo filogenético ascomicetos (hifas septadas), e os basidiósporos, em que está presente o grupo filogenético basidiomicetos (hifas septadas). Os fungos deuteromicetos não são considerados um grupo filogenético fúngico. Os fungos classificados como deuteromicetos são aqueles que não possuem um processo de reprodução conhecido.

Morfologicamente, os fungos filamentosos se apresentam na forma de hifas ramificadas (fungos pluricelulares) e as leveduras se apresentam na forma oval ou esférica (fungos unicelulares). A estrutura da célula fúngica é composta de parede celular, membrana plasmática, citoplasma, núcleo e cápsula. A parede celular é constituída de componentes como glucanas, mananas, quitina, proteínas e lipídios, que conferem rigidez à célula fúngica. A membrana plasmática está associada ao citoplasma, sendo composta por duas camadas de fosfolipídios, recobertas por proteínas. Nessa membrana, contém esteróis em forma de ergosterol. No citoplasma, encontram-se as inclusões de glicogênio, mitocôndrias, vacúolos de alimentos, gordura, condrioma, ribossomos e retículo endoplasmático, que participam da síntese e do metabolismo energético. No núcleo, estão as moléculas de DNA, RNA, juntamente com outras proteínas. É importante ressaltar que os fungos podem apresentar mais de um núcleo, onde ocorrerá a produção do RNA ribossomal. Alguns fungos podem apresentar uma cápsula constituída de mucopolissacarídeos, sendo importante para a patogênese do fungo, com a função de inibir a fagocitose.



Assimile

A classificação taxonômica dos fungos é realizada pelas características morfológicas, e os fungos são agrupados de acordo com as características comuns.

Identificação e caracterização dos micélios

A identificação dos fungos é baseada no estágio sexual e nas características morfológicas das espécies fúngicas. De modo geral, eles são caracterizados em leveduras (unicelular, em forma ovoide ou esférica), bolores ou mofos (pluricelular, em forma de hifas ramificadas), que são fungos microscópicos, e os cogumelos, que são considerados macroscópicos.

Os fungos que apresentam a forma de hifas ramificadas são denominados de fungos filamentosos e são pluricelulares. As hifas podem ser septadas (divide a hifa

em unidades semelhantes a uma célula) ou cenocíticas (ausente de septos). As hifas crescem por alongamento das extremidades a partir dos esporos, processo denominado de esporulação. Em condições ideais para o crescimento, as hifas desenvolvem uma massa filamentosa que é denominada de micélio (visível a olho nu). A região da hifa que obtém o nutriente para o seu crescimento é denominada de hifa vegetativa (micélio vegetativo) e a região da hifa que está envolvida com a reprodução é denominada de hifa reprodutiva ou aérea (micélio reprodutivo). Alguns fungos (principalmente os patogênicos) podem apresentar as duas formas de crescimento (hifas ramificadas e oval ou esférica), sendo denominados de dimórficos. Outros fungos que produzem formas adicionais a essas duas são denominados de polimórficos.



Exemplificando

Nos níveis taxonômicos, os sufixos empregados são: divisão (sufixo *mycota*); classe (*mycetes*); ordem (*ales*); família (*aceae*); gênero e espécie (não há uma em específico). Exemplo: reino: Fungi; divisão: *Ascomycota*; classe: *Hymenomyces*; ordem: *Tremellales*; família: *Filobasidiaceae*; gênero: *Filobasidiella*; espécie: *Neoformans*.

Conídios e tipo de reprodução das células fúngicas

Normalmente, os fungos produzem esporos assexuais. Os esporos assexuais produzem dois tipos de esporos: os conidiósporos ou conídios e o esporangiósporo. Os conídios são formados nas extremidades dos conidióforos. Os conídios formados a partir de uma hifa septada são denominados de artroconídios. Enquanto que os conídios são formados a partir da célula parental, sendo denominados de blastoconídios. Os conídios formados pelo arredondamento e alargamento no interior de um segmento da hifa são denominados de clamidoconídios. O esporangiósporo é formado no interior de um esporângio (bolsa) localizado na hifa aérea, denominando-se esporangióforo. Os esporos sexuais produzem os filósporos, basidiósporos e zigósporos. Os ascósporos se originam mediante a fusão do núcleo de duas células, que podem ser similares ou diferentes. Os basidiósporos são formados por meiose nos basídios. Enquanto que os zigósporos são decorrentes da fusão de núcleos de duas células similares, caracterizando-se pela presença de um esporo no interior de uma parede espessa.

O ciclo reprodutivo dos fungos leveduriformes pode ocorrer na forma sexuada e assexuada. Na forma assexuada, a reprodução pode ocorrer por cissiparidade (divisão direta) ou por brotamento (gemulação). No processo de reprodução por cissiparidade, as leveduras dividem o núcleo por amitose, que gera células idênticas. No processo de reprodução por gemulação, a reprodução pode gerar mais de 24 células-filhas por cada brotamento, sendo formadas células de tamanho desigual.

Nesse processo, a célula parental desenvolve uma protuberância na superfície externa da célula. Durante o desenvolvimento da protuberância (broto), o núcleo da célula parental se divide e migra para o broto. Em seguida, a parede celular é sintetizada e o broto é desmembrado da célula parental. Os brotos que não se separam da célula parental são denominados de pseudo-hifas e permanecem conectadas com as células parentais.



Vocabulário

Clamidósporo: estrutura constituída de reserva nutritiva, com membrana espessa que resiste aos fatores externos.

Demácio ou **demaciáceo:** fungo negro que tem pigmento melanoide em sua parede celular.

Hialino: não apresenta cor, translúcido, assume a cor do corante utilizado.

Em fungos filamentosos, a formação de esporos pode ocorrer na forma assexuada e sexuada. A reprodução assexuada é caracterizada por duas fases, a mitose e, subsequentemente, a divisão celular, enquanto que a reprodução sexuada é caracterizada em três fases, ou seja, a plasmogamia, a cariogamia e a meiose. Na fase plasmogamia, o núcleo haploide de uma célula doadora penetra no citoplasma da célula receptora. Na fase cariogamia, os núcleos se fundem para constituir um núcleo zigoto diploide. Na fase de meiose, o núcleo diploide origina um núcleo haploide (esporos sexuais). Os esporos são formados a partir das hifas aéreas, que podem ser assexuais (geneticamente idênticos à célula parental) ou sexuais (que apresentam características de ambas as linhagens parentais).



Pesquise mais

Leia o artigo referenciado a seguir:

ALMEIDA, M. S. et al. Isolamento microbiológico do canal auditivo de cães saudáveis e com otite externa na região metropolitana de Recife, Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 1, p. 29-32, jan. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2016000100005>>. Acesso em: 19 ago. 2016.

Sem medo de errar

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os pontos que foram analisados anteriormente. O hospital veterinário possui um laboratório de análises clínicas, que tem como objetivo dar suporte aos atendimentos clínicos realizados no HV e prestar serviços aos profissionais da área veterinária externa, a fim de identificar agentes patológicos, utilizando diferentes métodos de diagnósticos.

Mediante as informações apresentadas na situação-problema, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda aos enunciados, a seguir, para a resolução do caso clínico:

- Com relação aos agentes fúngicos, descreva suas principais características.

Os fungos são microrganismos eucariotas, não-fotossintéticos, uni e pluricelulares, quimioheterotróficos (que obtêm nutrientes por absorção), possuem uma parede celular constituída de quitina e polissacarídeos e crescem em um ambiente de pH variando de 5 a 6.

- Descreva a estrutura da célula fúngica.

A estrutura da célula fúngica é composta por parede celular, membrana plasmática, citoplasma, núcleo e cápsula. A parede celular é constituída de componentes como glucanas, mananas, quitina, proteínas e lipídios, que conferem rigidez à célula fúngica. A membrana plasmática está associada ao citoplasma, sendo composta por duas camadas de fosfolípidios, recobertas por proteínas. Nessa membrana, contém esteróis que são em forma de ergosterol. No citoplasma, encontram-se as inclusões de glicogênio, mitocôndrias, vacúolos de alimentos e gordura, condrioma, ribossomos e retículo endoplasmático, que participam da síntese e do metabolismo energético. No núcleo, estão as moléculas de DNA, RNA, juntamente com outras proteínas. É importante ressaltar que os fungos podem apresentar mais de um núcleo, onde ocorrerá a produção do RNA ribossomal. Alguns fungos podem apresentar uma cápsula constituída de mucopolissacarídeos, que é importante para a patogênese do fungo com a função de inibir a fagocitose.



Atenção

Morfologicamente, os fungos filamentosos (bolores e mofos) se apresentam na forma de hifas ramificadas (fungos pluricelulares), e as leveduras, na forma oval ou esférica (fungos unicelulares).

Avançando na prática

Criptococose felina

Descrição da situação-problema

Recentemente, o hospital veterinário de pequenos animais realizou o atendimento clínico de um gato com suspeita de criptococose felina. O proprietário relatou que o seu animal começou a apresentar lesões cutâneas no pescoço e na cabeça há algumas semanas. O animal não tinha histórico de vacinação ou de medicação. Durante o exame clínico, o médico veterinário observou lesões cutâneas na face, no pescoço e na cabeça. Examinando a cavidade nasal, foi observada a presença de granulomas em forma de pólipos. Em seguida, com o auxílio de uma lâmina de bisturi estéril, foi realizada uma raspagem nos locais que apresentavam as lesões. O material coletado foi encaminhado para análise laboratorial.

Mediante as informações apresentadas, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda aos enunciados, a seguir, para a resolução do caso clínico:

- Caracterize, morfológicamente, as leveduras.
- Com relação aos agentes fúngicos, descreva o ciclo reprodutivo das leveduras.



Lembre-se

A identificação dos fungos é baseada, principalmente, nas características morfológicas.

Resolução da situação-problema

Em continuidade ao relato de caso, as amostras foram submetidas a um exame direto, de cultura e cultivo em lâmina, para isolamento e identificação do agente fúngico. Ambos os testes confirmaram a presença do agente fúngico *Cryptococcus neoformans*.

- Caracterize morfológicamente as leveduras.
- As leveduras são unicelulares e apresentam uma forma oval ou esférica.
- Com relação aos agentes fúngicos, descreva o ciclo reprodutivo das leveduras.

A reprodução em leveduras pode ocorrer de forma assexuada ou sexuada. Na forma assexuada, a reprodução pode ocorrer por cissiparidade (divisão direta) ou por brotamento (gemulação). No processo de reprodução por cissiparidade, as leveduras dividem o núcleo por amitose, que gera células idênticas. No processo de reprodução por gemulação, a reprodução pode gerar mais de 24 células-filhas por cada brotamento, sendo formadas células de tamanho desigual. Nesse processo, a célula parental desenvolve uma protuberância em sua superfície externa. Com o crescimento da protuberância (broto), o núcleo da célula parental se divide e migra para o broto. Em seguida, a parede celular sintetiza, e o broto é desmembrado da célula parental. Os brotos que não se separam da célula parental são denominados de pseudo-hifas.



Faça você mesmo

Pesquise sobre técnicas laboratoriais utilizadas em micologia médica. Consulte o seguinte material de apoio:

ZAITZ, C. et. al. **Compêndio de micologia médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

Faça valer a pena

1. Os fungos são classificados separadamente de animais, bactérias e plantas. A classificação é decorrente dos componentes que compõem sua estrutura da célula fúngica. Com relação aos fungos, marque "V" para verdadeira e "F" para falsa:

- () Os fungos filamentosos são unicelulares.
- () Os bolores e mofo são fungos filamentosos.
- () Os cogumelos são classificados como fungos.
- () As leveduras são células pluricelulares.
- () Os fungos decompõem em matéria orgânica.

Assinale a alternativa que indica a sequência correta da classificação das afirmações entre verdadeiras e/ou falsas:

- a) F, V, V, F e V.
- b) V, F, F, V e F.
- c) V, F, V, F e V.
- d) F, V, F, V e V.
- e) V, V, V, F e F.

2. Os fungos possuem funções importantes na produção de alimentos (na fabricação de pães, no processo de fermentação de cerveja e vinhos), na confecção de medicamentos (na produção de antibióticos) e na fabricação de produtos químicos (na fabricação de detergentes). Entretanto, os fungos patogênicos e oportunistas podem causar infecções em animais e humanos. A seguir, complete as lacunas, descrevendo sobre eles. A _____ é um ramo da microbiologia que estuda os fungos. Os fungos são microrganismos celulares _____, que estão classificados no _____. No reino *Fungi*, estão presentes as _____ (unicelulares), os _____ (pluricelulares) e os _____ (espécies macroscópicas).

Assinale a alternativa correta que completa a ordem das lacunas:

- Bacteriologia, eucarióticos, reino *Fungi*, leveduras, bolores ou mofos e cogumelos.
- Micologia, procarióticos, reino *Fungi*, leveduras, bolores ou mofos e cogumelos.
- Micologia, eucarióticos, reino *Fungi*, leveduras, bolores ou mofos e cogumelos.
- Bacteriologia, procarióticos, reino *Fungi*, bolores ou mofos, leveduras e cogumelos.
- Micologia, eucarióticos, reino *Fungi*, cogumelos, leveduras e bolores ou mofos.

3. Várias técnicas são utilizadas para estabelecer ou confirmar um diagnóstico fúngico. Os fungos são identificados, principalmente, com base na morfologia da célula fúngica. Com relação à morfologia dos fungos, é correto afirmar:

- Os fungos leveduriformes apresentam hifas ramificadas.
- Os fungos filamentosos apresentam a forma oval ou esférica.
- Os fungos possuem parede celular.
- No citoplasma, encontram-se as inclusões de glicogênio.
- A membrana plasmática contém esteróis que estão na forma de ergosterol.

A seguir, assinale a alternativa correta:

- Somente as afirmativas II, IV e V são corretas.
- Somente as afirmativas I, II e V são corretas.
- Somente as afirmativas I, III e V são corretas.

- d) Somente as afirmativas III, IV e V são corretas.
- e) Somente as afirmativas I, II e III são corretas.

Seção 4.2

Identificação dos fungos filamentosos

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos a identificação dos fungos filamentosos de importância na medicina veterinária. Para melhor compreender o conteúdo abordado, acrescentaremos informações à situação-problema, referente ao relato de caso apresentado no item *Convite ao estudo*. Dessa forma, você participará indiretamente na resolução do caso:

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do hospital veterinário recebeu amostras para o diagnóstico de um agente fúngico. Junto às amostras, o médico veterinário encaminhou um laudo técnico, contendo informações detalhadas do atendimento clínico e indicando a suspeita de um agente fúngico. De acordo com o laudo técnico, as amostras de tecido *post-mortem* foram coletadas de um bezerro decorrente de um aborto. O proprietário relata que as vacas se apresentavam em condições normais e estavam mantidas em pastagem, entretanto, nas últimas semanas, os animais passaram a receber feno e, dias depois, uma das vacas, que estava no final da gestação, abortou. Imediatamente, ele entrou em contato com o médico veterinário que, logo em seguida, se deslocou para a propriedade. No exame clínico, foi confirmado um aborto no final da gestação. Os cotilédones apresentavam-se aumentados e os necróticos e o tecido placentário intercotiledonário, espesso e rígido. Ao realizar uma incisão nos cotilédones afetados, foi observado vasculite. Verificando a alimentação fornecida, constatou-se que o feno estava em condições inadequadas para ser fornecido aos animais, contendo mofo em grande parte do estoque. Dessa forma, o médico veterinário descartou hipóteses de outras doenças reprodutivas e indicou a suspeita de uma infecção fúngica, causando um aborto micótico. Posteriormente, coletaram-se amostras teciduais para análise laboratorial e secreções da vagina da vaca que abortou.

Mediante as informações apresentadas, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda aos enunciados a seguir para a resolução do caso clínico:

- Cite os gêneros pertencentes ao filo *Zygomycota*.

- Descreva as características macroscópicas das colônias das espécies fúngicas *Mortierella wolfii* e *Saksenaea vasiformis*.

Não pode faltar

Prezado aluno, a partir desta seção, começaremos a identificação dos fungos filamentosos de importância na medicina veterinária. Vamos lá!

Identificação por gênero e espécie

A diferenciação entre os fungos é baseada, principalmente, na estrutura morfológica, porém outros procedimentos laboratoriais podem ser adotados, como métodos moleculares, de cultivo em meio artificial, testes histopatológicos e testes sorológicos. Morfologicamente, há dois principais tipos de fungos de interesse veterinário: os filamentosos, denominados de bolores ou mofos, e os leveduriformes, denominados de leveduras.



Assimile

Os fungos filamentosos apresentam hifas ramificadas que podem ser septadas ou cenocíticas (ausentes de septo), enquanto as leveduras apresentam a forma oval ou esférica.

Os agentes fúngicos classificados no grupo dermatófitos apresentam três gêneros denominados de *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*. Estes fungos apresentam hifas septadas, crescem lentamente, são aeróbios estritos e suas colônias são pigmentadas. A seguir, algumas características morfológicas dos macroconídios de determinados fungos do gênero *Microsporum*: *Microsporum canis* (macroconídio fusiforme, rugoso, com parede grossa e com até quinze septos); *Microsporum gypseum* (macroconídio em forma de canoa, rugoso, com parede fina e até seis septos); *Microsporum nanum* (macroconídio em forma de pera ou ovoide, rugoso e com parede fina) e *Trichophyton mentagrophytes* (macroconídio em forma de charuto, liso, com parede fina e até sete septos).

No gênero *Aspergillus*, os agentes fúngicos são filamentosos, aeróbios, saprofitos, possuem hifas septadas, hialinas, conidióforos, crescem em ângulo reto, a ponta do conidióforo cresce e apresenta forma de uma vesícula recoberta por estruturas (métula, fiálide e conídio). Seu crescimento é rápido, formando colônias de coloração verde-azulada, preta, marrom, amarela ou avermelhada (anverso). As colônias podem apresentar até 5 cm de diâmetro, com crescimento entre 20°C a 50°C. A coloração do reverso, que é determinada pela pigmentação dos conídios, é de amarelo-claro a castanho-claro e, com o tempo, passa a ser acinzentada. *Aspergillus niger* são granulares e apresentam colônias pretas.

Aspergillus flavus possuem textura felpuda e coloração amarelo-esverdeada. *Aspergillus terreus* possuem textura granular e apresentam coloração marrom-avermelhadas. A aplicação lactonefol-azul de algodão sobre as cabeças aspergiliares permite caracterizar o tamanho, a forma das vesículas, a posição das fiáldes e a cor dos conídios. Procedimentos moleculares e sorológicos podem ser adotados na detecção de fungos *Aspergillus fumigatus*.



Refleta

A espécie *Aspergillus fumigatus* é responsável pela maioria das infecções em animais.

Os fungos classificados como dimórficos apresentam-se na forma filamentosa e leveduriforme. Entre as espécies classificadas nesse grupo, estão os filoz: *Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*, *Histoplasma farciminosum*, *Coccidioides immitis* e *Sporothrix schenckii*:

- Os *Blastomyces dermatitidis*, na forma filamentosa, apresentam conídios em forma oval ou de pera sobre conidióforos ou nas hifas septadas, e na forma de levedura, apresentam uma forma oval com parede espessa. As colônias podem apresentar coloração branca e algodonosas, passando para marrom com o envelhecimento da colônia (quando incubado de 25°C a 30°C), além da formação de conídios ovais ou em forma de pera, a partir dos conidióforos ou das hifas. Na forma de leveduras, essas colônias fúngicas apresentam cor de creme a castanho-claro e são enrugadas e cerosas. Procedimentos moleculares, histopatológicos de tecidos afetados e sorológicos podem auxiliar no diagnóstico.
- Fungos *Histoplasma capsulatum* e *farciminosum* apresentam colônias de coloração branca a amareladas, com hifas aéreas algodonosas. Em colônias velhas, observa-se a produção de microconídios tuberculados, a partir de conidióforos delgados, que se assemelham a um girassol. Na forma de leveduras, esse fungo apresenta colônias arredondadas, mucoides e coloração creme. Outros procedimentos, como coloração de Giemsa, exame histopatológico de tecidos afetados e método molecular, podem auxiliar no diagnóstico do agente fúngico.
- Os fungos no filo *Coccidioides immitis* apresentam grandes esférulas, contendo endósporos e, na forma filamentosa, apresenta hifas septadas com artrósporos. Em meios de cultivo, as colônias apresentam aspecto brilhante, coloração acinzentada, são úmidas e, com o tempo, tornam-se brancas e algodonosas. Culturas suspeitas podem ser confirmadas com testes de imunodifusão. Outros métodos podem ser adotados para

a identificação fúngica, com o auxílio de testes de aglutinação, fixação de complemento, inoculação intraperitoneal em camundongos e métodos moleculares.

- Os *Sporothrix schenckii* apresentam-se na forma filamentosa e leveduriforme. Na forma filamentosa, as hifas são septadas com conidióforos cônicos e conídios na forma de rosetas, enquanto, na forma de levedura, estes fungos apresentam formas pleomórficas, com formato de charuto. Em laboratório, as colônias apresentam crescimento rápido, são rugosas, duras e possuem coloração branca, tornando-se de pretas a marrons (em cultivo a 25°C). O agrupamento de conídios (forma de pera) nos conidióforos delgados apresentam forma de roseta. Em cultivo entre 35°C a 37°C, as colônias apresentam cor de creme a castanho-claro, sendo que as leveduras apresentam formato de charuto. Outros métodos podem ser utilizados na detecção do agente fúngico, como o exame histopatológico de tecidos suspeitos, imunoperoxidase e técnicas de anticorpos fluorescentes.
- Os fungos pertencentes ao filo *Zygomycota* possuem hifas asseptadas largas, crescem rápido, os esporangiósporos são produzidos assexuadamente e os zigósporos são esporos sexuados. No filo *Zygomycota*, duas ordens são de interesse veterinário, os *Mucorales* e os *Entomophthorales*. Desses, os *Mucorales* possuem seis gêneros (*Absidia*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Mortierella* e *Saksenaea*) e os *Entomophthorales* possuem dois gêneros (*Basidiobolus* e *Conidiobolus*) de importância veterinária.
- Os fungos de ordem *Mucorales* (fungos-alfinete ou fungo-do-pão) apresentam esporângios escuros em forma de pera (*Absidia*) e redondo (*Mucor*, *Rhizomucor* e *Rhizopus*). Os esporangióforos são ramificados, produzem filamentos rizoides, localizados nos esporangióforos (*Absidia*), entre os esporangióforos (*Rhizomucor*), em baixo dos esporangióforos (*Rhizopus*), sendo o gênero *Mucor* ausente. Uma estrutura denominada de apófise é observada no gênero *Absidia*, ausente no gênero *Mucor* e imperceptível nos gêneros *Rhizomucor* e *Rhizopus*. Duas espécies principais (*Mortierella wolfii* e *Saksenaea vasiformis*) estão associadas a doenças em animais. As colônias dos gêneros *Absidia*, *Mucor*, *Rhizomucor* e *Rhizopus* são felpudas acinzentadas ou marrom-acinzentadas. No caso das colônias da espécie *Mortierella wolfii*, são aveludadas, brancas e com contornos lobulados, enquanto que a espécie *Saksenaea vasiformis* apresenta colônias de penugens brancas. Outros procedimentos podem ser utilizados para a identificação do agente (histopatológica, métodos de anticorpos fluorescentes e testes sorológicos).

- Os fungos de ordem *Entomophthorales* apresentam uma única característica, que é a produção de um único conídio. Microscopicamente, os *Basidiobolus* possuem hifas largas asseptadas, com zigospórios redondos e de parede espessa. Os *Conidiobolus* possuem conidióforos únicos com conídios esféricos. Macroscopicamente, a diferenciação desses fungos é mediada pela morfologia da colônia: na espécie de *Basidiobolus*, as colônias são lisas, apresentam odor de terra e coloração cinza-amarelada e possuem forma plana com superfície pulverulenta e branca; para as espécies de *Conidiobolus*, as colônias apresentam cor de creme que se tornam marrons, são planas, lisas e com superfície pulverulenta e branca. O exame histopatológico pode auxiliar na identificação do agente fúngico.



Vocabulário

Artroconídios: esporos formados e liberados no processo de fragmentação das hifas.

Clamidósporos: esporos de parede espessa que contêm produtos de armazenamento.

Esporangiósporos: esporos formados por zigomicetos.

Processamento de amostras

Os resultados laboratoriais estão diretamente relacionados com o acondicionamento e o processamento do material biológico a ser analisado. O acondicionamento do material biológico que será encaminhado ao laboratório deve ser adequado e o processamento da amostra condizente com o exame eleito para a identificação do agente fúngico. A manipulação de espécimes suspeitos deve ser executada em cabines de biossegurança para minimizar riscos de contaminação ambiental e infecções em humanos. Entre os diversos materiais biológicos que se pode utilizar na identificação de agentes fúngicos, estão: pele e pelos, escarro, unhas, sangue e aspirado de medula óssea, urina, fezes, secreções de pele ou conduto auditivo, aspirado gástrico, pus (material de abscesso), aspirado traqueal e secreção coletada por broncoscopia, líquido, biópsia de tecido, conteúdo de micose ocular, lesão de nariz e seios paranasais, mucosa oral e orofaringe, secreção vaginal e líquidos corporais.

As amostras devem ser acondicionadas em recipientes estéreis, que possibilitam a vedação, e devem ser identificadas corretamente (espécie animal, sexo, idade, tipo de amostra, data e local de coleta). Um laudo técnico com informações detalhadas sobre o caso clínico deve acompanhar a amostra, a fim de auxiliar o técnico na eleição da metodologia mais adequada para o isolamento e a identificação do agente fúngico. Os diversos materiais biológicos que podem ser eleitos no

momento da coleta, como pus, fezes, urina e secreções, devem ser condicionadas sob refrigeração em caixa térmica, com o auxílio de gelo, e encaminhados para o laboratório, em até duas horas após coleta. Para pus e material de abscesso, deve-se utilizar seringa com agulha estéril. Materiais biológicos, como líquido e líquidos cavitários, devem ser encaminhados em recipientes lacrados, sob temperatura ambiente, até o laboratório, e processados com urgência. Outros materiais, como sangue e punção da medula óssea, também devem ser analisados imediatamente. No caso do sangue, deve ser assim para evitar sua coagulação. Na coleta de pele e pelos, a superfície deve ser descontaminada com o auxílio de álcool 70%, antes do procedimento. Em seguida, com o auxílio de uma lâmina de bisturi estéril, deve-se raspar as escamas cutâneas da borda das lesões, que serão condicionadas em uma lâmina de microscopia. Deve-se utilizar swabs estéreis umedecidos em solução salina para secreções e pele do conduto auditivo externo. Na coleta de material oriundo de micose ocular, não se deve proceder a coleta com swabs, mas mediar por biópsia, aspirador ou raspagem. Tecidos oriundos de necropsia ou biópsia devem ser coletados com instrumentos esterilizados e acondicionados em recipientes estéreis com solução salina.

No laboratório, as amostras devem ser processadas adequadamente para prosseguir com o método de diagnóstico eleito. No caso de pelos, unhas e escamas de pele, as amostras devem ser submetidas a um processo de clareamento para a análise microscópica. No processo de clareamento, emprega-se uma solução aquosa constituída de KOH, a 20%. No caso de cultivo em meio artificial, as amostras devem ser inoculadas diretamente, sem passar por nenhum processamento. Em amostras de urina, elas podem ser centrifugadas em velocidade de 1500 a 2000 rpm, por 10 minutos, para a análise microscópica. Para o cultivo, elas são semeadas por esgotamento em meio de cultura. Para secreções, líquido e fluidos corporais, as amostras em estado líquido devem ser centrifugadas em velocidade de 1500 a 2000 rpm, por 10 minutos, para concentrá-las. No caso de coleta do material com auxílio de swabs, deve-se colocar em solução salina e centrifugar, para concentrar a amostra. O material obtido após a centrifugação pode ser utilizado para o exame microscópico ou para o cultivo em meio de cultura. As amostras de tecidos obtidos por biópsia ou necropsia devem ser fragmentadas para o cultivo em meio de cultura, a fim de proporcionar maior contato. Deve-se utilizar utensílios estéreis no processo de manipulação das amostras. Em amostras de escarro, a porção purulenta deve ser eleita para a coleta, evitando as porções liquefeitas. Para análise microscópica, as amostras devem ser submetidas à solução de KOH, a 20%, a fim de fluidificar a amostra. No caso de cultivo em meio de cultura, as amostras não devem ser processadas com a solução de KOH. No caso da utilização de amostras de sangue e aspirados da medula óssea, elas não precisam passar pelo processo de preparação. As amostras não devem ser coletadas com anticoagulantes e devem ser cultivadas imediatamente em meio de cultura.



Exemplificando

Na análise macroscópica de fungos filamentosos, observam-se superfície, cor, pigmento difusível no meio de cultura e textura.

Na análise microscópica de fungos filamentosos, observam-se estruturas como hifa (septada ou cenocítica e hialina ou demácia), presença de esporos, forma e disposição.

Exames micro e macroscópicos

Na micologia, diferentes técnicas estão disponíveis para estabelecer ou confirmar o diagnóstico de uma infecção causada por um agente fúngico. Entre as técnicas utilizadas, estão os exames microscópicos (como exame micológico direto) e macroscópicos (como cultivo em meio de cultura e lâmpada de Wood etc), que permitem a identificação ou a indicação de um agente fúngico.

No exame microscópico, as amostras devem ser processadas antes de serem visualizadas no microscópio óptico, o que permite a visualização do agente fúngico na amostra analisada. Com o auxílio de um microscópio óptico, diferentes procedimentos podem ser adotados (preparados para melhor visualização), conforme o tipo de material biológico. Entre as técnicas utilizadas, estão o exame microscópico com hidróxido de potássio, o exame microscópico com tinta nanquim, o exame microscópico pelo método de Gram e o exame microscópico com coloração panótica:

a) No exame microscópico com hidróxido de potássio (KOH), as amostras de tecidos, unhas, pelos, pele e demais materiais biológicos espessos são submetidas a uma solução de KOH, a 20%. Nessa técnica, um fragmento da amostra é colocado em uma lâmina de microscopia e, em seguida, adiciona-se uma gota de KOH, a 20%, que é submetida a um ligeiro aquecimento na chama do bico de Bunsen para melhorar o processo de clareamento. Em seguida, deve-se esperar 20 minutos para posterior leitura no microscópio óptico nas objetivas 10x e 40x.

b) No exame microscópico com tinta nanquim, as amostras de secreções, exsudatos, urina e líquido são submetidas a tinta nanquim. Nessa técnica, uma gota da amostra centrifugada é colocada em uma lâmina de microscopia e, em seguida, adiciona-se uma gota da tinta nanquim. Feito isso, coloca-se uma laminula e se visualiza em microscópio óptico com objetiva 10x e 40x. Os agentes fúngicos ficam evidentes pela coloração do fundo negro causado pela tinta.

c) No exame microscópico pelo método de Gram, as amostras de fezes, urina e secreções são submetidas à técnica de coloração de Gram, que auxilia

na discriminação de agentes fúngicos em uma amostra suspeita. Porém, essa técnica não permite identificar os agentes virais. Com o auxílio de uma lâmina de microscopia, a amostra empregada sobre a lâmina é fixada com a ajuda do calor e é submetida ao procedimento de coloração da técnica de Gram. Após concluído, a lâmina é analisada em microscopia óptica.

d) No exame microscópico com coloração panótica, as amostras de sangue, aspirados, secreções cutâneas e de medula óssea são submetidas ao processo coloração (Giemsa, Wright ou Leishman). A técnica procede-se com a preparação de um esfregaço com a amostra eleita, em seguida, fixa-se com metanol e, então, o esfregaço é submetido ao processo. Posteriormente, a lâmina preparada é analisada em microscópio óptico.

No exame macroscópico, os aspectos morfológicos são observados visualmente com o auxílio de uma lupa, porém sem a ajuda de um microscópio óptico. Nele, dois métodos são amplamente utilizados: a técnica de cultivo, que permite identificar o agente suspeito, e a lâmpada de Wood, que nos fornece um indicativo da presença de agentes fúngicos. Assim, prevalecerá o meio de cultura como método essencial no diagnóstico de agentes fúngicos.

O método de cultura é uma técnica macroscópica empregada no isolamento e na identificação de agentes fúngicos (filamentosos e leveduriformes). Nessa técnica, amostras de sangue, líquido, pus, urina, escarros, fragmentos de tecidos, entre outros materiais biológicos, podem ser cultivados em meio cultura. Entre as características coloniais de fungos filamentosos, observa-se o tamanho, a aparência, a cor do anverso e do reverso e a presença de elevação ou depressão na superfície. As leveduras podem ser diferenciadas por aparência, tamanho e forma das células. Normalmente, os bolores formam colônias grandes com crescimento e alongamento de hifas em sua periferia, enquanto as colônias de leveduras são moles, lisas e redondas. A morfologia colonial de alguns fungos dermatófitos é caracterizada da seguinte forma: *Microsporum canis* (anverso: de branco a amarelado, com periferia laranja-claro; reverso: laranja-amarelado ou marrom-alaranjado); *Microsporum gypseum* (anverso: de amarelo a castanho com bordas brancas e friáveis; reverso: de amarelado a marrom-avermelhado); *Trichophyton equinum* (anverso: inicialmente, branco e felpudo, seguido de amarelado e pigueado; reverso: de amarelo a marrom-avermelhado escuro) e *Trichophyton mentagrophytes* (anverso: de castanho-claro a amarelo e pulverulento; reverso: de castanho-claro a marrom-escuro).

A lâmpada de Wood é uma técnica empregada para indicar a presença de agentes fúngicos na superfície da pele e em pelos. Emite uma luz ultravioleta, com comprimento de onda que varia de 320 a 450 nm, em que, quando em contato com o material biológico, parte da onda é absorvida (onda curta) e a outra é emitida (onda longa). A presença da substância pteridina na pele ou nos pelos,

que é produzida pelo fungo, emite fluorescência com a aplicação da lâmpada de Wood, permitindo visualizar uma coloração. A substância pteridina é sintetizada por fungos que infectaram pelos em fase de crescimento ativo, o que não ocorre em uma infecção pilosa. Dermatófitos da espécie *Microsporum canis* apresentam cor verde azulada. Outros dermatófitos também podem fluorescer, apresentando coloração diferente, como o *T. schoenleini*, que apresenta coloração verde-palha, e o fungo *Malassezia spp.* apresenta coloração de tom prateado. Essa técnica disponibiliza um diagnóstico rápido, porém a interpretação por profissionais inexperientes pode obter um diagnóstico incorreto. Assim, para confirmar o agente fúngico, é recomendado prosseguir com a técnica de cultura.



Pesquise mais

Leia o artigo a seguir disponível em:

CEOLIN, L. V. et al. Diagnóstico macro e microscópico de aspergilose em frangos de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 1061, 2012. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/90157/1/2-s2.0-84868008219.pdf>> Acesso em: 1 set. 2016.

Sem medo de errar

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os pontos da situação-problema que foram analisados anteriormente. O laboratório tem como objetivo prestar serviços aos profissionais da área veterinária, a fim de identificar agentes patológicos, utilizando diferentes métodos de diagnósticos para auxiliar na resolução de casos clínicos. De acordo com o técnico, o cultivo da amostra recebida (tecido cotiledonar) e o exame histológico evidenciaram a presença de um agente fúngico da espécie *Mortierella wolfii*, indicando que o aborto foi micótico.

Mediante as informações apresentadas, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda aos enunciados, a seguir, para a resolução do caso clínico:

- Cite os gêneros pertencentes ao filo *Zygomycota* de acordo com a classificação da ordem.

Os gêneros pertencentes ao filo *Zygomycota* estão classificados em duas ordens: *Mucorales* e *Entomophthorales*. Na ordem *Mucorales*, estão os gêneros *Absidia*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Mortierella* e *Saksenaea*. Na ordem *Entomophthorales*, estão os gêneros *Basidiobolus* e *Conidiobolus*.

- Descreva as características macroscópicas das colônias das espécies fúngicas *Mortierella wolfii* e *Saksenaea vasiformis*.

As colônias da espécie *Mortierella wolfii* são aveludadas, brancas e com contornos lobulados, enquanto que a espécie *Saksenaea vasiformis* apresenta colônias de penugens brancas.



Atenção

As espécies fúngicas classificadas na ordem Mucorales estão presentes no solo, na vegetação, e os seus esporos podem ser aerotransportados.

Avançando na prática

Micose das bolsas guturais

Descrição da situação-problema

Recentemente, o médico veterinário foi solicitado para fazer uma visita técnica em uma propriedade rural. O proprietário possui uma criação de equinos da raça Puro Sangue Inglês e, de acordo com o relato dele, um de seus cavalos estava apresentando dificuldade para engolir e descarga nasal. Durante o exame clínico do cavalo, o médico veterinário observou disfagia, epistaxe e descarga nasal unilateral, com aumento de volume pós-auricular. Com o auxílio de um endoscópio, prosseguiu com o exame no trato respiratório, onde visualizou um acúmulo de exsudato inflamatório na bolsa gutural. De acordo com os achados clínicos, foi indicada a suspeita de um agente fúngico. Em seguida, foram coletados espécimes de secreção e tecido por biópsia, para serem analisados em laboratório.

Mediante as informações apresentadas, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda ao enunciado a seguir para a resolução do caso clínico:

- A secreção nasal amostrada foi submetida a uma análise microscópica com tinta nanquim. Descreva os procedimentos desse método.



Lembre-se

Os aspergilos são fungos filamentosos que habitam o solo e a matéria orgânica em decomposição.

Resolução da situação-problema

Em continuidade com o relato de caso, as amostras de secreção e de tecidos foram submetidas à análise laboratorial. Ambas foram cultivadas em meio de cultura, a fim de verificar a possibilidade do crescimento de colônias fúngicas. Posteriormente, foram analisados os aspectos macroscópicos das colônias fúngicas e, em seguida, um fragmento de cada colônia foi submetido à análise microscópica. Os resultados evidenciaram a presença da espécie fúngica *Aspergillus fumigatus*.

- A secreção nasal amostrada foi submetida a uma análise microscópica com tinta nanquim. Descreva os procedimentos desse método.

Para secreções, líquido e fluídos corporais, as amostras em estado líquido devem ser centrifugadas em velocidade de 1500 a 2000 rpm, por 10 minutos, com o objetivo de concentrar a amostra. No caso de coleta do material com o auxílio de swabs, coloca-se em solução salina e centrifuga-se para concentrar a amostra. No exame microscópico com tinta nanquim, as amostras de secreções, exsudatos, urina e líquido são submetidas à tinta nanquim. Nessa técnica, uma gota da amostra centrifugada é colocada em uma lâmina de microscopia e, em seguida, adiciona-se uma gota da tinta nanquim. Feito isso, coloca-se uma lamínula e se visualiza em microscópio óptico com objetiva 10x e 40x. Os agentes fúngicos ficam evidentes pela coloração do fundo negro causado pela tinta.



Faça você mesmo

Pesquise sobre leveduras e doenças em animais e elabore o diagnóstico laboratorial de uma determinada infecção fúngica de importância clínica da veterinária. Consulte o material de apoio:

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Artmed, 2005.

Faça valer a pena

1. Os agentes fúngicos são classificados em grupos com base em suas características morfológicas. O grupo de fungos dermatófitos classifica-se em diferentes gêneros, que apresentam hifas septadas, são aeróbios, crescem lentamente e suas colônias são pigmentadas. Com relação aos gêneros pertencentes ao grupo dermatófitos, marque "V" para verdadeira e "F" falsa:

() O gênero *Blastomyces* está classificados no grupo dermatófitos.

- () O gênero *Microsporium* está classificado no grupo dermatófitos.
 () O gênero *Epidermophyton* está classificado no grupo dermatófitos.
 () O gênero *Trichophyton* está classificado no grupo dermatófitos.
 () O gênero *Aspergillus* está classificado no grupo dermatófitos.

A seguir, assinale a alternativa correta na descrição da sequência de verdadeiro e falso, em relação às afirmativas anteriores:

- a) F, V, V, V e F.
 b) V, F, F, V e V.
 c) V, F, V, F e V.
 d) F, V, F, V e V.
 e) V, V, V, F e F.

2. O gênero *Blastomyces* está classificado nos fungos dimórficos, que apresentam a forma filamentosa e leveduriforme. Com relação à espécie *Blastomyces dermatitidis*, complete o enunciado a seguir: os *Blastomyces dermatitidis*, na forma _____, apresentam conídios em forma oval ou de pera sobre _____ ou nas _____; e na forma de levedura, apresentam uma forma _____ com parede espessa. As colônias podem apresentar coloração _____ passando para _____ com o envelhecimento da colônia (quando incubado de 25°C a 30°C), além da formação de conídios ovais ou em forma de pera, a partir dos conidióforos ou das hifas.

Assinale a alternativa correta que completa a ordem das lacunas:

- a) Leveduriforme, conidióforos, hifas septadas, oval, branca e algodonosas, verde.
 b) Filamentosa, conidióforos, hifas septadas, oval, branca e algodonosas, marrom.
 c) Leveduriformes, conidióforos, hifas septadas, oval, branca e algodonosas, marrom.
 d) Filamentosa, conídios, hifas septadas, oval, marrom e algodonosas, branca.
 e) Filamentosa, conidióforos, hifas cencíticas, oval, branca e algodonosas, verde.

3. Os fungos *Sporothrix schenckii* estão classificados como fungos dimórficos, que pertencem ao gênero *Sporothrix* da família *Ophiostomataceae*. Com relação à espécie *Sporothrix schenckii*, é

correto afirmar:

I. No exame laboratorial, pode-se encontrar o fungo *Sporothrix schenckii* na forma de levedura.

II. No exame laboratorial, pode-se encontrar o fungo *Sporothrix schenckii* na forma filamentosa.

III. Em colônias velhas, observa-se produção de microconídios tuberculados a partir das hifas septadas.

IV. Na forma de leveduras, este fungo apresenta colônias arredondadas, mucoides e de coloração creme.

V. Procedimentos, como coloração de Giemsa, exame histopatológico de tecidos afetados e método molecular, não auxiliam no diagnóstico do agente fúngico em função do fungo ser dimórfico.

Leia e analise o texto e as afirmativas anteriores, assinalando a alternativa correta, a seguir:

- a) Somente as afirmativas II, IV e V são corretas.
- b) Somente as afirmativas I, II e V são corretas.
- c) Somente as afirmativas I, III e V são corretas.
- d) Somente as afirmativas I, II e IV são corretas.
- e) Somente as afirmativas I, II e III são corretas.

Seção 4.3

Doenças fúngicas veterinárias

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos algumas doenças fúngicas de importância na medicina veterinária. Para melhor compreender o conteúdo abordado, acrescentaremos informações à situação-problema referente ao relato de caso apresentado no item *Convite ao estudo*. Dessa forma, você participará indiretamente na resolução do caso:

Recentemente, o laboratório de análises clínicas do hospital veterinário recebeu amostras para diagnóstico de um agente fúngico. Juntamente com as amostras, o médico veterinário encaminhou um laudo técnico, contendo informações detalhadas sobre o atendimento clínico. O proprietário relatou que o animal estava em condições normais e que, recentemente, começaram a aparecer lesões cutâneas na face. Durante o exame clínico, o médico veterinário observou lesões cutâneas na face, na cabeça e no pescoço. Examinando a cavidade nasal, presenciou granulomas em forma de pólipos. Em seguida, foi realizada uma biópsia de tecido e coletado exsudato para serem encaminhados para a análise laboratorial. No laudo técnico, o médico veterinário indicou a suspeita de um agente fúngico da espécie *Cryptococcus neoformans*.

Mediante as informações apresentadas, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda aos enunciados a seguir para a resolução do caso clínico:

- Entre as espécies fúngicas de levedura, quais são as de importância em doenças de animais?
- Descreva as características da infecção, o fator de virulência do agente fúngico e os aspectos clínicos de animais infectados pelo fungo *Cryptococcus neoformans*.

Não pode faltar

Prezado aluno, a partir desta seção, começaremos a estudar as doenças fúngicas de importância na medicina veterinária. Vamos lá!

Caracterização da espécie animal envolvida

Os fungos filamentosos e leveduriformes de interesse veterinário estão classificados em três grandes grupos: os dermatófitos, as micoses subcutâneas e as micoses sistêmicas. Entre as diversas espécies fúngicas, poucos agentes fúngicos são considerados virulentos (patógenos primários) e outra minoria, oportunistas. Os patógenos primários são capazes de iniciar uma infecção fúngica em um hospedeiro que apresenta condições normais de saúde, enquanto que os agentes oportunistas causam uma infecção fúngica em indivíduos que apresentam um comprometimento de suas barreiras protetoras, como lesões na pele e nas membranas mucosas ou falha do sistema imune. Todas as espécies animais estão sujeitas a infecções fúngicas, podendo adquirir os fungos a partir do solo ou em contato com outros animais infectados. Aproximadamente 90% dos fungos acometem animais de companhia.



Assimile

Os fungos filamentosos são caracterizados por hifas ramificadas, que podem ser septadas ou cenocíticas.

Fungos dermatófitos

Os dermatófitos apresentam diversas espécies fúngicas classificadas em três principais gêneros: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*, que estão classificados como geofílicos, zoofílicos e antrofilicos. Entre os gêneros dermatófitos, o gênero *Microsporum* e *Trichophyton* apresentam maior patogenicidade quando comparado com o gênero *Epidermophyton*. A seguir, constam alguns fungos de interesse veterinário e seus respectivos hospedeiros dos gêneros *Microsporum* e *Trichophyton*:

- O gênero *Microsporum* apresenta algumas espécies fúngicas de interesse veterinário e seus respectivos hospedeiros: *Microsporum canis* var. *canis* (gatos e cães), *Microsporum canis* var. *distortum* (cães), *Microsporum equinum* (equinos), *Microsporum gallinae* (frangos e perus), *Microsporum gypseum* (equinos, cães, roedores), *Microsporum nanum* (suínos) e *Microsporum persicolor* (rato silvestre).
- O gênero *Trichophyton* apresenta algumas espécies fúngicas de interesse veterinário e seus respectivos hospedeiros: *Trichophyton*

equinum (equinos), *Trichophyton equinum* var. *autotrophicum* (equinos), *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* (porco-espinho e cães), *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes* (roedores, cães, equinos e outras espécies animais), *Trichophyton mentagrophytes* var. *quickeanum* (camundongo), *Trichophyton simii* (macaco, aves domésticas e cães) e *Trichophyton verrucosum* (bovinos).



Refleta

Os fungos geofílicos habitam e se replicam em solo com presença de material queratinoso em decomposição, enquanto que os fungos zoofílico e antrofilico são patógenos obrigatórios e incapazes de se replicar no solo. Sendo assim, os animais podem se infectar com fungos geofílicos a partir do solo e de animais infectados.

Fungos do gênero *Aspergillus*

O gênero *Aspergillus* possui uma grande quantidade de espécies fúngicas, porém apenas um número limitado causa doença em cães, gatos, aves, equinos e bovinos. Entre as espécies fúngicas do gênero *Aspergillus*, a espécie *Aspergillus fumigatus* é o agente fúngico que está mais envolvido no processo de infecção, quando comparado às espécies *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flavipes* e *Aspergillus deflecleus*. Entre os animais acometidos pelas espécies do gênero *Aspergillus*, estão: aves, equinos, bovinos, gatos e cães.

Fungos dimórficos

As espécies fúngicas, que se apresentam tanto na forma filamentosa, quanto na forma leveduriforme, são denominados de fungos dimórficos. Entre os gêneros que apresentam essas características estão os *Blastomyces*, *Histoplasma*, *Coccidioides* e *Sporothrix*. As espécies fúngicas associadas a doenças em animais e humanos são: *Blastomyces dermatitidis* (cães e humanos); *Histoplasma capsulatum* (cães, gatos e humanos); *Coccidioides immitis* (cães, equinos e humanos); *Histoplasma farciminosum* (equinos); e *Sporothrix schenckii* (equinos, gatos, cães e humanos).

Leveduras

As leveduras estão presentes no meio ambiente, causando infecções oportunistas em animais. Entre as leveduras de importância veterinária, estão as espécies *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Malassezia pachydermatis*. A espécie *Candida albicans* está presente em plantas, no trato digestivo e urogenital de animais. O *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* pode ser isolado em fezes de pombos, em aves e em solos com resíduos de excrementos. Outra espécie

Cryptococcus neoformans var. *gattii* tem sido isolada em árvores do gênero *Eucalyptus*. Em mamíferos e aves, a *Malassezia pachydermatis* está presente em regiões da pele que possuem grande número de glândulas sebáceas. Em cães, a *Malassezia pachydermatis* pode ser encontrada no canal auditivo externo, na região anal, nos lábios e na pele interdigital. As infecções decorrentes por *Candida albicans* estão associadas à imunossupressão, acometendo bezerros, éguas, vacas, frangos, cães, gatos, equinos, suínos, potros e filhotes de cães e gatos. Entre as espécies acometidas por *Cryptococcus neoformans*, estão: equinos, bovinos, gatos e cães. A *Malassezia pachydermatis* acomete, principalmente, a espécie canina, em casos que envolvem imunossupressão.

Fungos zigomicetos

Os fungos pertencentes ao filo *Zygomycota* possuem duas ordens de interesse veterinário (*Mucorales* e *Entomophthorales*), sendo que a ordem *Mucorales* possui seis gêneros (*Absidia*, *Mucor*, *Rhizomucor*, *Rhizopus*, *Mortierella* e *Saksenaea*) e a ordem *Entomophthorales*, dois gêneros (*Basidiobolus* e *Conidiobolus*). A infecção por agentes fúngicos pertencentes à ordem *Mucorales* causa mucormicose em bovinos, suínos, gatos e cães, e a infecção por agentes pertencentes à ordem *Entomophthorales* causa entomofotoromicoses em equinos, cães e ovinos.

Órgão ou sistema orgânico comprometido e características das lesões: histórico clínico e caracterização da forma de reprodução do agente

Fungos dermatófitos

Os fungos dermatófitos são capazes de colonizar o extrato córneo (todo o tecido que produz queratina), como pele, pelos, unhas e chifres. A severidade das lesões é decorrente da virulência do dermatófito e em função da resposta imunológica do hospedeiro. Assim, animais recém-nascidos com imunidade não adquirida, animais em idade avançada, animais que apresentam lesões na pele ou animais imunossuprimidos estão mais suscetíveis à infecção fúngica.

Fatores como umidade e calor auxiliam no crescimento de hifas e na germinação de esporos. A infecção pode causar resposta inflamatória localizada, decorrente dos produtos metabólicos produzidos durante o crescimento das hifas. A presença de hifas pode causar hiperplasia epidérmica e hiperqueratose. Animais infectados podem desenvolver uma resposta imunológica transitória, o que normalmente resulta em eliminação dos dermatófitos e na resolução da lesão, porém pode ocorrer reinfecção.

- Em gatos, a dermatofitose é causada, principalmente, por *Microsporum canis*. Animais infectados apresentam alopecia com lesões circulares, dermatite miliar, pseudomicetomas, onicomiose e, raramente, lesões generalizadas em animais que estão imunossuprimidos.

- Em cães, a dermatofitose por ser causada por *Microsporum canis*, *Microsporum gypsum*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei*. Animais infectados apresentam áreas de alopecia, pelos quebrados, escamação e zonas inflamatórias. Em menor incidência, pode-se observar foliculite e onicomicose.
- Em bovinos, a dermatofitose é causada pelo *Trichophyton verrucosum*. A ocorrência da dermatofitose em bovinos é, principalmente, nos meses de inverno. Bovinos (terneiros, novilhas e vacas) apresentam lesões na face, ao redor dos olhos, no pescoço e nos membros. São observadas áreas de alopecia com formação de crostas branco-acinzentadas.
- Em equinos, a dermatofitose é causada por *Microsporum equinum* e *Trichophyton equinum* e *Trichophyton equinum* var. *autotrophicum*. A localização das lesões de alopecia pode indicar a via de infecção, que pode ser decorrente de contato direto com utensílios (região de encilhar) ou pelo solo (região do dorso). Em contato com bovinos infectados, pode-se adquirir o dermatófito *Trichophyton verrucosum*.



Vocabulário

Micose sistêmica: refere-se a uma infecção fúngica em tecidos profundos.

Micose subcutânea: refere-se a uma infecção fúngica do tecido abaixo da pele.

Micose superficial: refere-se a uma infecção fúngica localizada na superfície de células epidérmicas e em folículos pilosos.

Fungos do gênero *Aspergillus*

Presentes no solo ou em matéria orgânica em decomposição, a infecção em animais pode ocorrer na forma respiratória (inalação dos esporos) ou na forma sistêmica, após inalação (acompanhada com a imunossupressão). Entre as doenças causadas em animais domésticos por espécies do gênero *Aspergillus*, estão: em aves (pneumonia incubadora, pneumonia e aerossaculite e aspergilose generalizada); em equinos (micose nas bolsas gutorais, granuloma nasal, ceratite e aspergilose intestinal); em bovinos (aborto micótico, mastite micótica, pneumonia micótica e aspergilose); em gatos (aspergilose sistêmica); e em cães (otite externa, aspergilose nasal e disseminada).

- A pneumonia de incubadora de frangos jovens é causada pelo fungo *Aspergillus fumigatus*, acometendo aves recém-chocadas e causando

sonolência, inapetência, presença de nódulos amarelados nos pulmões e nos sacos aéreos.

- A aspergilose de aves adultas acomete aves domésticas, pinguins de cativeiro, psitacídeos e aves de rapina. A infecção ocorre pela inalação de esporos presentes na cama ou em alimentos contaminados. Animais infectados apresentam emagrecimento, dispneia, nódulos amarelados nos pulmões e em sacos aéreos (semelhantes a lesões de tuberculose aviária).
- A micose das bolsas guturais acomete equinos e é causada pelo fungo *Aspergillus fumigatus*. Animais infectados apresentam epistaxe, disfagia, hemiplegia da laringe, necrose tecidual, trombose, erosão da parede dos vasos sanguíneos e lesão neural.
- A aspergilose em cães, acomete animais jovens e de meia idade de raças dolicocefálicas. Animais infectados apresentam espirros, crises de epistaxe, descarga nasal sanguinopurulenta profusa e persistente e radioluminescência aumentada dos ossos das conchas nasais.
- O aborto micótico em vacas é decorrente da ingestão de fenos, silagens ou grãos contaminados pelo fungo *Aspergillus fumigatus*. Animais infectados apresentam placentite e aborto no final da gestação.

Fungos dimórficos

A infecção ocorre, principalmente, pela inalação (via respiratória), podendo ser disseminada para os demais órgãos do animal. A infecção também pode ocorrer através de lesões decorrentes em tecidos dérmicos.

- As espécies fúngicas, seus hospedeiros e a doença são apresentados a seguir: *Blastomyces dermatitidis* (em cães e humanos, causam lesões em pulmões, metástases para a pele e outros tecidos); *Histoplasma capsulatum* (em cães, gatos e humanos, causam lesões em pulmões e metástases para outros órgãos); *Coccidioides immitis* (em cães, equinos e humanos, causam lesões em pulmões e metástases para os ossos); *Histoplasma farciminosum* (em equinos, causam lesões na pele, vasos linfáticos e nos linfonodos); e *Sporothrix schenckii* (em equinos, gatos, cães e humanos, causam lesões na pele e em vasos linfáticos).



Exemplificando

A resposta inflamatória causada por fungos patógenos é variada e, dependendo de sua duração, a inflamação poderá ser aguda (caracterizada por fenômenos exsudativos, como edema, fibrina,

presença de leucócitos, neutrófilos e hemácias) ou crônica (caracterizada por fenômenos produtivos, como proliferação vascular, deposição de colágenos, fibroblastos e a presença de monócitos, linfócitos e plasmócitos).

- A blastomicose canina acomete machos jovens de raças esportivas por meio de inalação do agente fúngico. Animais infectados apresentam tosse, dispneia e intolerância ao exercício. A baixa imunidade do animal pode favorecer a disseminação do agente fúngico para a pele, os olhos e os ossos. Inicialmente, pode estar limitada aos pulmões e linfonodos.
- A histoplasmose canina e felina ocorre pela inalação do agente fúngico. Os macrófagos alveolares absorvem os microconídios que, na forma de levedura, acabam se replicando. Animais infectados apresentam lesões granulomatosas nos pulmões. Cães apresentam lesões ulcerativas intestinais, diarreia, emagrecimento e tosse crônica. Com menor frequência, os cães podem apresentar claudicação, disfunção neurológica, linfadenite periférica, nódulos ulcerativos e lesões nos olhos. Em gatos, raramente ocorre lesões nos intestinos, porém inclui depressão, dispneia, perda de peso e febre.
- A coccidioidomicose equina é uma doença pulmonar com presença de tosse. Outros sinais clínicos não específicos são observados, como febre intermitente, perda de peso, dor abdominal e musculoesquelético. A dor musculoesquelética ocorre em um terço dos animais infectados. Em casos de aborto decorrente pela infecção do agente *Coccidioides immitis*, foram observados espessamento da placenta, lesões no cordão umbilical e a presença de nódulos nos pulmões do feto.
- A esporotricose felina causa lesões nodulares na cabeça, na cauda e nas extremidades dos membros. Ao longo do curso da doença, os nódulos ulceram e liberam exsudato seropurulento, podendo expor o tecido muscular e ósseo. A presença de grande número de agentes fúngico pode ser um risco para seres humanos que manipulam animais infectados.

Leveduras

As leveduras estão presentes no meio ambiente, na pele e nas mucosas de animais. Sua infecção ocorre em função de fatores predisponentes, como terapia antimicrobiana ou imunidade deficiente.

Candida albicans

O agente fúngico *Candida albicans* possui fatores de virulência (proteases e fosfolipases) que auxiliam na penetração tecidual. Na fase inicial da infecção,

mecanismos fagocíticos podem eliminar grande parte das leveduras, porém a presença de fosfolipases nas extremidades das hifas auxiliam na invasão. Por outro lado, fatores predisponentes, como doenças, distúrbios da microbiota (uso prolongado de antibióticos), defeitos na imunidade e lesões na mucosa, favorecem o estabelecimento da infecção.

- As infecções decorrentes por *Candida albicans* estão associadas, principalmente, à imunossupressão, acometendo bezerros (úlceras gastroesofágicas, ruminite e doença disseminada), éguas (piometra), vacas (aborto, mastite e redução de fertilidade), frangos (aftas no esôfago ou no papo), cães (enterite e lesões cutâneas), gatos (urocistite, piotórax, lesões oculares e doença disseminada), equinos (lesões oculares), suínos (úlceras gastroesofágicas e doença disseminada), potros (estomatite micótica) e filhotes de cães e gatos (estomatite micótica).

Cryptococcus neoformans

As infecções ocasionadas pelo fungo *Cryptococcus neoformans* ocorrem pela inalação do agente fúngico que está presente em poeira contaminada. Em animais infectados, os fungos podem se fixar nos seios nasais, nas cavidades nasais e nos pulmões. Entre os fatores de virulência, estão a presença de cápsula que atua como antifagocitária e a fenol oxidase, que degrada a catecolamina e acumula a substância melanina, agindo contra os efeitos tóxicos dos radicais livres. Além disso, esses fungos podem crescer em temperatura corporal de mamíferos. Sua disseminação a partir do sistema respiratório é decorrente da imunidade mediada por células.

- Entre as doenças causadas por *Cryptococcus neoformans*, estão: em equinos (sinusite, lesões cutâneas, pneumonia, meningoencefalite, granuloma nasal e aborto); em bovinos (granuloma nasal e mastite); em gatos (infecções cutâneas, nervosas, respiratórias e oculares); e em cães (doença disseminada com sinais neurológicos e oculares).

Malassezia pachydermatis

A *Malassezia pachydermatis* pode ser encontrada em regiões da pele que apresentam um grande número de glândulas sebáceas, em mamíferos e aves. Associada com otite externa e dermatite seborreica em cães, a colonização do agente fúngico está correlacionada com casos de imunossupressão.

- A presença do agente fúngico *Malassezia pachydermatis* no conduto auditivo de cães produz proteases (enzimas proteolíticas), que podem causar lesões no conduto auditivo. É importante ressaltar que outros agentes bacterianos podem estar associados à infecção. A otite externa é caracterizada por secreções e prurido intenso, decorrentes da produção

excessiva e da retenção de cera ocasionada pela hipersecreção das glândulas ceruminosas. A presença de agentes fúngicos causam alterações que contribuem para o processo inflamatório.

- A dermatite seborreica canina ocorre em animais que apresentam imunossupressão e dobras na pele, com persistência de alta umidade. Animais infectados apresentam prurido, eritema, exsudato gorduroso, aglutinação de pelos e odor fétido.

Fungos *zigomicetos*

Raramente, infecções causadas por fungos *Zigomicetos* acometem animais imunocompetentes sadios, ocorrendo, principalmente, em animais predispostos (devido ao uso de antibióticos por longo período ou à imunodeficiência). A infecção por agentes fúngicos pertencentes à ordem *Mucorales* causam mucormicose, em bovinos, e é caracterizada por aborto, pneumonia após aborto, ruminite, úlcera do abomaso, granuloma cranial, linfadenite mediastinal e mesentérica; em suínos, observa-se enterite (leitões), úlceras gastrintestinais, linfadenite mesentérica e mandibular; em gatos é caracterizada por pneumonia necrosante focal e enterite necrótica; e em cães, é caracterizada por enterite. No caso de agentes fúngicos de ordem *Entomophthorales*, estes causam entomofotoromicoses em equinos que apresentam granulomas cutâneos causados por espécies de *Basidiobolus* e granulomas nasais causados por espécies de *Conidiobolus*; em cães, é caracterizada por granulomas pulmonares e gastrintestinais causados por espécies de *Basidiobolus* e granulomas subcutâneos causados por espécies de *Conidiobolus*; e em ovinos, observa-se granulomas causados por espécies de *Conidiobolus*.

- O aborto micótico é causado por fungos do gênero *Aspergillus*, porém casos de aborto micótico têm sido relatados por espécies fúngicas do gênero *Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus* e a espécie *Mortierella wolfii*. A infecção é decorrente da ingestão de forragens conservadas mofadas (silagens e fenos). Animais infectados apresentam lesões nos cotilédones (aumentados e necróticos), tecido placentário espessado, rígido e lesões na pele dos fetos abortados.
- A ruminite micótica em bovinos é caracterizada por lesões na mucosa ruminal, que está associada com distúrbios metabólicos, como a acidose láctica. Em animais que apresentam a infecção, observa-se artrite trombótica, podendo causar infarto, hemorragia, necrose e peritonite fibrinótica.



Pesquise mais

Leia o artigo:

KOMMERS, Glaucia Denise et al. Criptococose pulmonar granulomatosa

em um equino. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v. 35, n. 4, p.938-940, ago. 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000400032>>. Acesso em: 7 set. 2016.

Sem medo de errar

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os pontos que foram analisados, anteriormente, da situação-problema:

O laboratório tem como objetivo prestar serviços aos profissionais da área veterinária, a fim de identificar agentes patológicos, utilizando diferentes métodos de diagnósticos para auxiliar na resolução de casos clínicos. De acordo com o técnico, o cultivo da amostra e o exame microscópico confirmou a suspeita do agente fúngico da espécie *Cryptococcus neoformans*, diagnosticando a doença criptococose felina.

Mediante as informações apresentadas, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda aos enunciados, a seguir, para a resolução do caso clínico:

- Entre as espécies fúngicas de levedura, quais são as espécies de importância em doenças de animais?

Entre as leveduras de importância veterinária, estão as espécies *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Malassezia pachydermatis*.

- Descreva as características da infecção, o fator de virulência do agente fúngico e os aspectos clínicos de animais infectados pelo fungo *Cryptococcus neoformans*.

As infecções ocasionadas pelo fungo *Cryptococcus neoformans* ocorrem pela inalação do agente fúngico, que está presente em poeira contaminada. Em animais infectados, os fungos podem se fixar nos seios e nas cavidades nasais e nos pulmões. Entre os fatores de virulência, estão a presença da cápsula que atua como antifagocitária e a fenol oxidase, que degrada a catecolamina e acumula a substância melanina, agindo contra os efeitos tóxicos dos radicais livres. Além disso, esses fungos podem crescer em temperatura corporal de mamíferos. Sua disseminação a partir do sistema respiratório é decorrente da imunidade mediada por células. Entre as doenças causadas por *Cryptococcus neoformans*, estão: equinos (sinusite, lesões cutâneas, pneumonia, meningoencefalite, granuloma nasal e aborto); bovinos (granuloma nasal e mastite); em gatos (infecções cutâneas, nervosas, respiratórias e oculares); e em cães (doença disseminada com sinais neurológicos e oculares).



Atenção

Animais que apresentam fatores predisponentes, como terapia antimicrobiana ou imunidade deficiente, estão sujeitos à infecção por leveduras.

Avançando na prática

Coccidiodomicose equina

Descrição da situação-problema

Recentemente, o médico veterinário foi solicitado para fazer uma visita técnica em uma propriedade rural. O proprietário possui uma criação de cavalos da raça Manga larga. De acordo com o relato do proprietário, um de seus cavalos apresentava perda de peso, dor abdominal e febre. Durante o exame clínico do cavalo, o médico veterinário avaliou o animal, que já estava em um estágio mais avançado, e observou febre intermitente, tosse, dor abdominal, perda de peso, envolvimento pulmonar e musculoesquelético. De acordo com os achados clínicos, foi indicada a suspeita de um agente fúngico. Em seguida, foram coletados espécimes de secreção nasal, para serem analisados em laboratório.

Mediante as informações apresentadas, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda ao enunciado, a seguir, para a resolução do caso clínico:

- Descreva as características da doença coccidiodomicose equina.



Lembre-se

As espécies fúngicas se apresentam tanto na forma filamentosa quanto na forma leveduriforme, assim, denominados de fungos dimórficos.

Resolução da situação-problema

Em continuidade ao relato de caso, as amostras de secreção foram submetidas à análise laboratorial. A amostra foi cultivada em meio de cultura, a fim de verificar a possibilidade do crescimento de colônias fúngicas. Posteriormente, foram analisados os aspectos macroscópicos das colônias fúngicas e, em seguida, um fragmento de cada colônia foi submetido à análise microscópica. Os resultados evidenciaram a presença da espécie fúngica *Coccidioides immitis*.

- Descreva as características da doença coccidiodomicose equina.

A coccidiodomicose equina é uma doença pulmonar com a presença de tosse. Outros sinais clínicos não específicos são observados, como febre intermitente, perda de peso, dor abdominal e musculoesquelética. A dor musculoesquelética ocorre em um terço dos animais infectados. Em casos de aborto decorrente pela infecção do agente *Coccidioides immitis*, foram observados espessamento da placenta, lesões no cordão umbilical e a presença de nódulos nos pulmões do feto.



Faça você mesmo

Pesquise sobre microrganismos de importância veterinária semelhantes a fungos. Consulte o material de apoio:

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas.** Artmed, 2005.

Faça valer a pena

1. Durante um exame clínico de um cão com aproximadamente 3 anos de idade, o médico veterinário constatou a presença de áreas de alopecia, escamação e pelos quebrados com zonas inflamatórias. De acordo com os sinais clínicos, ele suspeitou de dermatofitose, que é causada por um agente fúngico. Com relação aos dermatófitos, marque "V" para verdadeira e "F" falsa:

() Os dermatófitos de interesse veterinário estão classificados em dois gêneros, *Microsporum* e *Aspergillus*.

() O agente fúngico *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* acomete, principalmente, porcos-espinhos e cães.

() O agente fúngico *Sporothrix schenckii* pertencente ao gênero *Trichophyton* acomete, principalmente, equinos, cães e roedores.

() O agente fúngico *Coccidioides immitis* pertencente ao gênero *Trichophyton* acomete, principalmente, frangos e perus.

() O agente fúngico *Trichophyton verrucosum* acomete bovinos.

Escolha a alternativa a seguir, que corresponda, na ordem correta, à sua análise das afirmativas anteriores, quanto à verdadeiras ou falsas:

a) F, V, V, V e F.

b) F, V, F, F e V.

c) V, F, V, F e V.

d) F, V, F, V e V.

e) V, V, V, F e F.

2. Todas as espécies animais estão sujeitas a infecções fúngicas, que podem ser adquiridas a partir do solo ou de contato com outros animais infectados. Entre as diversas espécies fúngicas, poucos agentes são considerados virulentos (patógenos primários) e outra minoria, oportunistas. A seguir, complete o enunciado:

Os _____ são capazes de iniciar uma _____ em um hospedeiro que apresenta _____ de saúde, enquanto os agentes _____ causam uma infecção fúngica _____ que apresentam _____ de suas barreiras protetoras, como _____ e nas membranas mucosas ou falha _____.

Assinale a alternativa correta que completa a ordem das lacunas:

a) Patógenos oportunistas, infecção bacteriana, condições normais, primários, em indivíduos, comprometimento, lesões na pele, do sistema imune.

b) Patógenos primários, infecção fúngica, condições normais, oportunistas, em indivíduos, comprometimento, lesões na pele, do sistema imune.

c) Patógenos primários, infecção fúngica, condições normais, oportunistas, em indivíduos, comprometimento, lesões na pele, do sistema reprodutivo.

d) Patógenos oportunistas, infecção fúngica, condições normais, primários, em indivíduos, comprometimento, lesões na pele, do sistema imune.

e) Patógenos oportunistas, infecção fúngica, condições anormais, primários, em indivíduos, comprometimento, lesões na pele, do sistema reprodutivo.

3. A dermatofitose em bovinos é causada pelo agente fúngico *Trichophyton verrucosum*. Entre os bovinos, os terneiros são mais suscetíveis à infecção fúngica, causando lesões na face e ao redor dos olhos. Com relação ao gênero *Trichophyton*, é correto afirmar que:

I. O agente fúngico *Trichophyton equinum* acomete equinos.

II. Roedores, cães, equinos são suscetíveis à espécie fúngica *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes*.

III. O agente fúngico *Trichophyton mentagrophytes* var. *quickeanum*

acomete, principalmente, equinos.

IV. A espécie fúngica *Trichophyton equinum* var. *autotrophicum* acomete, principalmente, bovinos.

V. Em casos de dermatofitose em bovinos, o principal agente fúngico do gênero *Thichophyton* é o fungo *Trichophyton verrucosum*.

A seguir, assinale a alternativa correta:

- a) Somente as afirmativas II, IV e V são corretas.
- b) Somente as afirmativas I, II e IV são corretas.
- c) Somente as afirmativas I, III e V são corretas.
- d) Somente as afirmativas I, II e V são corretas.
- e) Somente as afirmativas I, II e III são corretas.

Seção 4.4

Fisiologia e identificação das micotoxinas

Diálogo aberto

Olá, aluno!

Nesta seção, estudaremos a fisiologia e a identificação das micotoxinas importantes na medicina veterinária. Para melhor compreender o conteúdo abordado, vamos acrescentar informações à situação-problema referente ao relato de caso apresentado no item *Convite ao estudo*. Dessa forma, você participará, indiretamente, da resolução do caso:

Durante a aferição de produção de leite em uma propriedade rural, o proprietário constatou que a produção semanal teve uma redução de 10%. Procurando entender a situação, ele observou que a redução estava relacionada a um grupo de animais. Então, entrou em contato com um médico veterinário, a fim de que o auxiliasse no caso. Durante a visita técnica, o médico veterinário constatou que, do grupo de animais que apresentou redução na produção de leite, três vacas apresentavam cambaleio, sonolência e pequenos episódios de convulsões. Durante a anamnese, o proprietário informou que este lote de animais foi remanejado para uma área de azevém perene, onde estavam por duas semanas. Analisando o local, o médico veterinário constatou que os animais estavam pastejando o azevém em um estágio vegetativo desenvolvido, que continha espigas. Também foi observado, o fornecimento de aveia no coxo para as vacas em lactação, constatando que o produto estava em condições inadequadas, apresentando mofos. Descartando outras hipóteses, e com base nos sinais clínicos, o médico veterinário suspeitou de micotoxinas. Como recomendação, solicitou que remanejassem os animais para outra pastagem e suspendessem o fornecimento de aveia. Em seguida, foram coletadas amostras de azevém perene e de aveia grão para detectar a presença de agentes fúngicos e micotoxinas.

Mediante as informações apresentadas, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda aos enunciados, a seguir, para a resolução do caso clínico:

- Quais são os principais gêneros de fungos que produzem micotoxinas?

- Descreva os métodos de diagnóstico para a identificação de micotoxinas.

Não pode faltar

Prezado aluno, a partir desta seção, começaremos a fisiologia e a identificação das micotoxinas de importância na medicina veterinária. Vamos lá!

Identificação e fisiologia dos fungos produtores de micotoxinas de interesse veterinário

Mais de 100 espécies fúngicas podem produzir micotoxinas, porém somente algumas são de interesse médico veterinário e de saúde pública, estando associadas a doenças em animais e humanos. Dessas, as principais estão classificadas em três gêneros, que são: *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*. Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* pertencem ao reino *Fungi*, filo *Ascomycota*, classe *Eurotiomycetes*, ordem *Eurotiales* e família *Trichocomaceae*. O gênero *Fusarium* pertence ao reino *Fungi*, filo *Ascomycota*, classe *Sordariomycetes*, ordem *Hypocreales*, família *Nectriaceae*.



Assimile

O termo micotoxina é derivado de duas palavras, sendo uma de origem grega “*mykes*”, que significa fungo, e outra de origem do latim “*toxican*”, que significa toxina.

O desenvolvimento de fungos produtores de micotoxinas ocorre na planta e no processo de armazenamento. Entre os fungos de interesse médico veterinário, temos os do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*, que se desenvolvem durante o processo de armazenamento de grãos, enquanto os do gênero *Fusarium* se desenvolvem durante o amadurecimento dos grãos na planta. Os fatores que propiciam o desenvolvimento fúngico estão relacionados com o ambiente em que o fungo se encontra. Para fungos que estão em crescimento na planta (lavoura ou pastagens), os fatores estão relacionados com a condição climática, a espécie de planta-alvo e o estágio de desenvolvimento da planta. Em fungos que crescem em alimentos (cereais) estocados, os fatores estão relacionados com a qualidade dos grãos, as condições de estocagem, as condições sanitárias (presença de insetos ou ácaros) e de transporte. Na fase de produção de micotoxinas, os fatores estão relacionados com ao tipo e à concentração no grão. Os fungos podem ser eliminados dos grãos, porém, uma vez produzida a micotoxina, o processo de eliminação do fungo não elimina a toxina. No animal, fatores como espécie animal, idade, sexo, órgãos afetados, influências climáticas e duração de exposição à micotoxina são favoráveis para a contaminação de micotoxinas.

A contaminação animal e humana pode ser indireta ou direta. Na forma indireta, a infecção ocorre pela ingestão de alimentos e rações contaminados por fungos toxigênicos que foram eliminados, porém a micotoxina permaneceu no produto. Na forma direta, a infecção ocorre pela ingestão de alimentos e rações contaminados com fungos toxigênicos, sendo que a micotoxina será formada posteriormente. As micotoxinas são metabólitos secundários que possuem baixo peso molecular, são termoestáveis, não são antigênicas e sua toxicidade permanece após sua exposição a temperaturas elevadas (como peletização).



Refleta

As micotoxinas são contaminantes naturais em alimentos e são produzidas à medida que o fungo atinge a sua maturidade.

Entre as principais espécies que estão associadas à produção de micotoxinas de interesse médico veterinário, estão: *Aspergillus flavus* (aflatoxinas B1, B2, G1 e G2), *Aspergillus ochraceus* (ocratoxinas A, B e C), *Aspergillus clavatus* (neurotoxina não identificada), *Fusarium moniliforme* (fumonisinas B1, B2, A1 e A2), *Fusarium solani* (metabólitos secundário derivados do 4-ipomeanol), *Fusarium graminearum* (zearalenona), *Penicillium viridicatum* (ocratoxinas A, B e C), *Diplodia maydis* (neurotoxina não identificada), *Pithomyces chartarum* (esporidesmina), *Claviceps purpúrea* (ergotamina, ergometrina e ergocristina), *Neophytodium coenophialum* (ergovalina), *Phomopsis leptostromiformis* (fomopsinas A e B), *Acremonium lolli* (lolitrema), *Claviceps paspali* (paspalitremas A e B), *Myrothecium verrucaia* (roridinas e verrucarinas) e *Rhizoctonia leguminicola* (eslaframina).

O crescimento fúngico é caracterizado em quatro fases, que são a fase de latência, a fase exponencial, a fase estacionária e a fase de declínio. A produção da micotoxina ocorrerá entre a fase final do crescimento exponencial e o início do período estacionário do agente fúngico. Nesse período, a produção das micotoxinas ocorrerá mediante a presença de precursores metabólicos, como aminoácidos (esporidesminas, xantocilina e gliotoxina), acetil-CoA e malonil-CoA (aflatoxina, citreoviridina, esterigmatocistina, patulina, ácido penicílico, rugulosina, citrinina, citromicetina, zearalenona e luteoesquirina), aminoácidos associados com policetídeos (ocratoxinas A e citocalasinas), aminoácidos associados com mevalonato (alcaloides do ergot, furmitremorginas e ácido cicloazônico).

Para o isolamento e a identificação dos agentes fúngicos em grãos e plantas, aplicam-se técnicas de cultivo, microscopia (microscópio estereoscópico) e técnicas moleculares. As amostras devem passar por uma assepsia superficial, com uma solução com 1% de hipoclorito de sódio, por três minutos. Em seguida, as amostras podem ser cultivadas em meio Ágar Batata Dextrose e incubadas, aerobiamente, a 25°C, durante um período de cinco dias. Após, como critérios de identificação,

observará a morfologia colonial.

Na identificação de micotoxinas, as amostras devem ser cuidadosamente selecionadas e armazenadas a -20°C , até o início da análise. A identificação de micotoxinas é mediada por diferentes métodos, que podem ser por triagem, semiquantitativos (cromatografia de camada delgada, técnicas de imunoensaio, como ELISA, e técnicas imunocromáticas) e quantitativos (cromatografia de alta eficiência acoplada à fluorescência e ao UV, cromatografia líquida acoplada à espectrofotometria de massa e cromatografia gasosa acoplada à espectrofotometria de massa), que utilizam colunas de imunoafinidade ou colunas de carvão e alumina.



Vocabulário

Citotoxicidade: refere-se à exposição de substâncias tóxicas de origem natural ou artificial, que causa danos às células (citotoxinas).

Hepatotoxicidade: refere-se à exposição de substâncias tóxicas de origem natural ou artificial, que causa danos ao fígado (hepatotoxinas).

Neurotoxicidade: refere-se à exposição de substâncias tóxicas de origem natural ou artificial, que altera a atividade normal do sistema nervoso, de tal forma a causar danos ao tecido nervoso (neurotoxinas).

Caracterização e ação das micotoxinas nas diferentes espécies animais

Diversas espécies de animais, como suínos, aves, bovinos, equinos, ovinos, cães e outras espécies de animais domésticos, estão sujeitos à contaminação por micotoxinas. A contaminação pode ser direta ou indireta, conforme mencionado anteriormente. Entre as doenças causadas por micotoxinas, estão a aflatoxicose, diplodiose, ergotismo, eczema facial, toxicose pela festuca, toxicose pelo mofo da batata-doce, leucoencefalomalácia, ocratoxicose, estrogenismo, toxicose pela eslaframina, edema pulmonar suíno, cambaleio pelo penitrema, tremores induzidos por *Aspergillus clavatus*, cambaleio pelo paspalo, síndrome hemorrágica, cambaleio pelo azevém e estaquibotriotoxicose. A seguir, serão caracterizadas algumas doenças causadas por micotoxinas de interesse veterinário:

- **Aflatoxicose:** em animais suscetíveis, como suínos, aves domésticas, bovinos, cães e trutas, que apresentam a doença aflatoxicose, os achados clínicos são caracterizados por anorexia e redução da produção de leite devido à imunossupressão, hepatotoxicidade, teratogênese e atividade carcinogênea causada pela micotoxina. A aflatoxicose é causada por aflatoxinas B1, B2, G1 e G2 produzidas pelo fungo *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, que contaminam grãos de amendoim e soja.

- Ergotismo: animais suscetíveis, como bovinos, ovinos, cervídeos, equinos, suínos e aves domésticas, se contaminam com micotoxinas denominadas de ergotamina, ergometrina e ergocristina, causando convulsões, gangrena nas extremidades, agalactia, hipertermia em ambientes de clima quente, devido à neurotoxicidade e à vasoconstrição causada pela micotoxina. A doença é causada pelo fungo *Claviceps purpúrea*, que está presente em gramíneas, cereais e nas espigas de azevém.
- Eczema facial: a doença é causada pelo fungo *Pithomyces chartarum*, que produz a micotoxina denominada de esporidesmina. Animais suscetíveis, como equinos, bovinos e ovinos, apresentam fotossensibilização e icterícia devido à hepatotoxicidade e à oclusão biliar causada pela micotoxina. O fungo está presente na palha de azevém (usada como cama para os animais), em pastagem de *Brachiaria spp* e no trevo branco.
- Ocratoxicose: animais suscetíveis, como suínos e aves domésticas, apresentam queda na produção de ovos, em aves, e polidipsia, poliúria, em suínos, devido a alterações renais degenerativas causada pela micotoxina. A ocratoxicose é causada pelos fungos *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum*, entre outras espécies do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*. As ocratoxinas A, B e C produzidas estão presentes no milho, trigo e cevada.
- Estrogenismo: a doença é causada pela micotoxina zearalenona produzida pelo fungo *Fusarium graminearum* e outras espécies do gênero *Fusarium*. Animais suscetíveis, como suínos, bovinos e ovinos, apresentam hiperemia, edema da vulva e desenvolvimento precoce das mamas, anestro, tamanho reduzido da leitegada e redução da fertilidade em bovinos e ovinos, devido à atividade estrogênica causada pela micotoxina. O fungo se instala em grãos estocados, como de milho e cevada, silagem de milho e em cereais peletizados.
- Síndrome hemorrágica: a doença é causada por micotoxinas denominadas de toxina T-2 e diacetoscirpenol, que são produzidas pelos fungos *Fusarium graminearum*, *Fusarium sporotrichoides*, entre outras espécies do gênero *Fusarium*. Animais infectados apresentam lesões necróticas na pele e no trato alimentar associadas a hemorragias decorrentes da imunossupressão e coagulopatia causadas pela micotoxina. Estes fungos estão presentes em cereais e palhas.
- Cambaleio pelo azevém perene: animais suscetíveis, como bovinos, aves domésticas, suínos, ovinos, equinos e cervídeos, apresentam tremores musculares, descoordenação, ataque convulsivo repentino e colapso, devido à neurotoxicidade causada pela micotoxina. A doença é causada pela micotoxina lolitrema, produzida pelo fungo *Acremonium lolli*, que se instala no azevém perene.



Exemplificando

A toxicose pela eslaframina causa salivação, lacrimejamento, inchaço e diarreia em bovinos, devido à ação colinérgica da micotoxina eslaframina produzida pelo fungo *Rhizoctonia leguminicola* presente em pastagens, trevo vermelho e feno.

Meios de controle do crescimento fúngico

Para o desenvolvimento de micotoxinas, condições ambientais e outros fatores devem ser predisponentes para o crescimento fúngico, uma vez que a produção da micotoxina ocorrerá entre a fase final do crescimento exponencial com o início do período estacionário do agente fúngico. Entre os fatores mencionados anteriormente, a presença de oxigênio, temperatura, umidade, condições sanitárias (insetos e ácaros) e qualidade do material (grãos inteiros ou quebrados) são aspectos importantes a serem observados. Para evitar a produção de micotoxinas em grãos e a contaminação animal, medidas preventivas se iniciam no plantio dos cereais, seguido no processo de armazenamento e da seleção de ingredientes (grãos e forragens conservadas) para a formulação de rações. De maneira geral, essas medidas se baseiam em dois pontos-chaves: prevenção de contaminação e de crescimento fúngico em grãos e detoxificação de compostos tóxicos sintetizados pelos fungos nos grãos.

A campo, as medidas a serem adotadas se iniciam com a escolha de variedades que apresentam maior resistência a agentes fúngicos (melhoramento genético), plantio com número de plantas e espaçamento adequado, para obter melhor aeração e insolação, aquisição de fungicidas registrados e aplicados em estádios corretos do desenvolvimento da planta e colheita do grão com baixa umidade e impureza. Entre os agentes fúngicos de interesse veterinário, as espécies do gênero *Fusarium* são os principais agentes que se desenvolvem em grãos a campo.

No processo de armazenamento de grãos, os fungos de interesse veterinário de maior incidência pertencem ao gênero *Penicillium* e *Aspergillus*. O controle se inicia desde a comercialização de grãos, que deve ser regida conforme a legislação vigente (compra de fornecedores idôneos), seguido de controle químico, físico ou biológico. Basicamente, os pontos-chaves para se obter um bom armazenamento de cereais estão relacionados com a estrutura de armazenamento, que deve permitir o controle de umidade, temperatura, entrada de oxigênio adequada (ventilação) e controle de insetos. O tempo de armazenamento do produto pode influenciar no crescimento fúngico, quando as condições são favoráveis para o seu desenvolvimento. É importante ressaltar que as medidas adotadas podem eliminar o fungo, entretanto, se ocorrer a produção da micotoxina, ela não é

eliminada. Dessa forma, é necessário o monitoramento para verificar a presença de micotoxinas nos grãos armazenados.

Em relação aos animais suscetíveis, a forma de controle é baseada na prevenção. Entre os cuidados, estão: comprar ingredientes (grãos) de fornecedores idôneos, evitar a utilização de rações ou alimentos suspeitos e não utilizar alimentos em estado de deterioração e que apresentem mofo. Animais em estado nutricional adequado e com boa imunidade são menos suscetíveis a infecções causadas por agentes patogênicos ou intoxicações. O conhecimento prévio de uma possível instalação do fungo e dos aspectos relacionados com a produção de micotoxinas pode evitar a contaminação por micotoxinas. Para cereais que apresentam alguma contaminação por micotoxinas, pode-se utilizar adsorventes na formulação da dieta, a fim de reduzir os danos provocados por micotoxinas. Entre os adsorventes, estão os derivados de argila (aluminossilicato de sódio, bentonitas, sepiolita, montmorilonita, diatominas e aluminossilicato de cálcio), que apresentam alta eficiência no sequestro de micotoxinas (aflotoxinas). Esses adsorventes possuem carga negativa, enquanto as toxinas apresentam carga positiva, sendo, assim, absorvidas e tornando-as inertes (sem efeitos tóxicos).



Pesquise mais

Leia o artigo disponível em:

TESSARI, E. N. C. et al. Efeitos da aflatoxina sobre as aves: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, São Paulo, n. 18, p. 1-20, 2012. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/IHlMAvHqsVawq5g_2013-6-28-18-13-38.pdf>. Acesso em: 17 set. 2016.

Sem medo de errar

Para compreender melhor a situação apresentada, vamos recapitular os pontos que foram analisados, anteriormente, na situação-problema:

O laboratório tem como objetivo prestar serviços laboratoriais aos profissionais da área veterinária, a fim de identificar agentes patológicos a partir de diferentes métodos de diagnósticos para auxiliar na resolução de casos clínicos. De acordo com o técnico, o cultivo da amostra e o exame microscópico confirmou a presença do *Claviceps purpurea*. Utilizando cromatografia de alta eficiência, detectou-se a presença das micotoxinas ergotamina e ergometrina.

Mediante as informações apresentadas, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda aos enunciados, a seguir, para a resolução do

caso clínico:

- Quais são os principais gêneros de fungos que produzem micotoxinas?

Os principais gêneros de interesse médico veterinário e de saúde pública, e que estão associados com a produção de micotoxinas, são os gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*.

- Descreva os métodos de diagnóstico para a identificação de micotoxinas.

A identificação de micotoxinas pode ser feita por triagem e métodos semiquantitativos (cromatografia de camada delgada, técnicas de imunoensaio, como ELISA, e técnicas imunocromáticas) e quantitativos (cromatografia de alta eficiência acoplada à fluorescência e ao UV, cromatografia líquida acoplada à espectrofotometria de massa e cromatografia gasosa acoplada à espectrofotometria de massa), que utilizam colunas de imunoafinidade ou colunas de carvão e alumina.



Atenção

Na identificação das micotoxinas, as amostras devem ser, cuidadosamente, selecionadas e armazenadas a -20°C até o início da análise.

Avançando na prática

Eczema facial

Descrição da situação-problema

Recentemente, o médico veterinário foi solicitado para fazer um atendimento clínico em uma propriedade. De acordo com o relato do proprietário, alguns ovinos começaram a apresentar edemas e rachaduras na pele. Durante o exame clínico do cavalo, o médico veterinário observou que as lesões estavam concentradas na cabeça, confirmando a presença de edema e com rachaduras na pele. Prosseguindo com a anamnese, o proprietário relatou que o lote de ovinos que apresentou edema e rachaduras na pele estava em pastagem de *Brachiaria decumbens*. Descartando outras hipóteses, o médico veterinário suspeitou de fotossensibilização, causada por um agente fúngico que poderia estar instalado em tal pastagem. Como medida adotada, foi recomendo remanejar os ovinos para abrigos com alimentação, água e sombreamento, a fim de prosseguir com o tratamento. Em seguida, amostras de sangue com anticoagulante e amostras de pastagem foram coletadas para serem analisadas em laboratório.

Mediante as informações apresentadas, e com o auxílio dos conteúdos abordados nesta seção, responda aos enunciados, a seguir, para a resolução do caso clínico:

- Descreva um procedimento de identificação para agentes fúngicos em grãos.
- Descreva a técnica de cultivo para o isolamento de agentes fúngicos em grãos.



Lembre-se

As espécies fúngicas se apresentam tanto na forma filamentosa quanto na forma leveduriforme, assim denominados de fungos dimórficos.

Resolução da situação-problema

Em continuidade ao relato de caso, as amostras foram submetidas à análise laboratorial. A amostra foi cultivada em meio de cultura, a fim de verificar a possibilidade do crescimento de colônias fúngicas. Posteriormente, foram analisados os aspectos macroscópicos das colônias fúngicas e, em seguida, um fragmento de cada colônia foi submetido à análise microscópica. Os resultados evidenciaram a presença da espécie fúngica *Pithomyces chartarum*.

- Cite duas técnicas para identificação de agentes fúngicos em grãos.

Para o isolamento e a identificação dos agentes fúngicos em grãos e plantas, pode-se aplicar a técnica de cultivo, de microscopia estereoscópica e técnicas moleculares.

- Descreva a técnica de cultivo para isolamento de agentes fúngicos em grãos.

As amostras devem passar por uma assepsia superficial com uma solução a 1% de hipoclorito de sódio, por três minutos. Em seguida, as amostras podem ser cultivadas em meio Ágar Batata Dextrose e incubadas, aerobiamente, a 25°C, durante um período de cinco dias. Após, como critérios de identificação, observará a morfologia colonial.



Faça você mesmo

Pesquise sobre as características das doenças causadas por micotoxinas que não foram abordadas nesta seção: diplodiose, toxicose pela festuca, toxicose pelo mofo da batata-doce, leucoencefalomalácia, toxicose

pela eslaframina, edema pulmonar suíno, cambaleio pelo penitrema, tremores induzidos por *Aspergillus clavatus*, cambaleio pelo paspalo e estaquibotriotoxicose. Consulte o material de apoio:

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Artmed, 2005.

Faça valer a pena

1. As micotoxinas podem causar grandes prejuízos na produção animal. Mais de 100 espécies fúngicas produzem micotoxinas, no entanto, apenas as espécies fúngicas pertencentes ao gênero *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* são de interesse veterinário. Com relação à toxinomina fúngica, marque "V" para verdadeira e "F" falsa:

- () O gênero *Aspergillus* pertence ao reino *Fungi*.
- () O gênero *Penicillium* pertence ao filo *Acomycota*.
- () O gênero *Fusarium* pertence à classe *Sordarimycetes*.
- () O gênero *Fusarium* pertence à ordem *Eurotiales*.
- () O gênero *Penicillium* pertence à família *Nectriaceae*.

A seguir, assinale a alternativa correta na descrição da sequência de verdadeiro e falso, em relação às afirmativas anteriores:

- a) F, V, V, V e F.
- b) F, F, F, F e V.
- c) V, V, V, F e V.
- d) V, V, V, F e F.
- e) V, V, V, F e F.

2. O termo micotoxina tem sido utilizado para definir substâncias que são prejudiciais para animais de produção e companhia, além de acometer seres humanos. A seguir, complete o enunciado que explica a origem da palavra micotoxina:

O termo micotoxina é derivado de duas palavras, sendo uma de origem grega, _____, que significa _____, e outra de origem do latim, _____, que significa _____. Assinale a alternativa correta que completa a ordem das lacunas:

- a) Toxican, bactéria, mykes e vírus.
- b) Mykes, bactéria, toxican e toxina.
- c) Toxican, toxina, mykes e fungos.
- d) Toxican, fungo, mykes e toxina.
- e) Mykes, fungo, toxican e toxina.

3. A produção de micotoxinas pode ocorrer, a campo, na planta, ou durante o processo de armazenamento do grão. A contaminação animal e humana ocorre de forma direta ou indireta. Com relação à produção de micotoxinas, é correto afirmar que:

I. Um dos fatores que interferem na produção de agentes fúngicos na planta é a condição climática.

II. A qualidade do grão é importante para evitar a instalação de fungos no processo de armazenamento.

III. A presença de ácaros e insetos pode favorecer a instalação de fungos no grãos armazenados.

IV. A duração de exposição e concentração da micotoxina não favorece no processo de contaminação animal.

V. Os fungos não são eliminados dos grãos com o auxílio de processos físicos e químicos, porém, uma vez produzida a micotoxina, ela permanece presente no grão.

A seguir, assinale a alternativa correta:

- a) Somente as afirmativas II, IV e V são corretas.
- b) Somente as afirmativas III, IV e V são corretas.
- c) Somente as afirmativas I, II e III são corretas.
- d) Somente as afirmativas II, III e V são corretas.
- e) Somente as afirmativas I, II e IV são corretas.

Referências

- ALMEIDA, M. S. et al. Isolamento microbiológico do canal auditivo de cães saudáveis e com otite externa na região metropolitana de Recife, Pernambuco. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 1, p. 29-32, jan. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2016000100005>>. Acesso em: 19 ago. 2016.
- ALMEIDA, S. R. de. **Ciências farmacêuticas: micologia**. Rio de Janeiro: EGK, 2008.
- BRASIL. **Deteção e Identificação dos Fungos de Importância Médica**. Módulo VII. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwjJ64n9lc7OAhXCDZAKHWG2CfoQFggcMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.anvisa.gov.br%2Fservicos/2Fmicrobiologia%2Fmod_7_2004.pdf&usq=AFQjCNFLtgeCGHU0qEJsv9RM05dIXRUIKQ&bvm=bv.129759880,d.Y2l>. Acesso em: 19 ago. 2016.
- CEOLIN, L. V. et al. Diagnóstico macro e microscópico de aspergilose em frangos de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 1061, 2012. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/90157/1/2-s2.0-84868008219.pdf>> Acesso em: 1 set. 2016.
- ENGELKIRK, P. G.; BURTON, G. R. W. **Microbiologia para as ciências da saúde**. 9. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2012.
- GREENE, C. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4. ed. São Paulo: Roca, 2015.
- HIRSH, D. C; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: EGK, 2003.
- KOMMERS, G. D. et al. Criptococose pulmonar granulomatosa em um equino. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 4, p. 938-940, ago. 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000400032>>. Acesso em: 7 set. 2016.
- LOPES, J. M. et al. Adição de bentonita sódica como adsorvente de aflatoxinas em rações de frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782006000500040>>. Acesso em: 8 set. 2016.
- PANDEY, R. **Microbiologia veterinária: perspectivas clínicas e moleculares**. São Paulo: Roca, 1994.
- QUINN, P. F. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

TESSARI, E. N. C. et al. Efeitos da aflatoxina sobre as aves: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, São Paulo, n. 18, p. 1-20, 2012. Disponível em: <http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/IHIMAvHqsVawq5g_2013-6-28-18-13-38.pdf>. Acesso em: 17 set. 2016.

ZAITZ, C. **Compêndio de micologia médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: EGK, 2010.



ISBN 978-85-8482-678-0



9 788584 826780 >