

# **INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

## **MESTRADO EM TECNOLOGIAS LABORATORIAIS EM CIÊNCIAS FORENSES**

### **O USO DA MICOLOGIA FORENSE COMO FERRAMENTA PARA A ESTIMATIVA DO INTERVALO POST-MORTEM**

Trabalho submetido por  
**Stella Lecler Martinez**  
para a obtenção do grau de Mestre em Tecnologias Laboratoriais em  
Ciências Forenses

**novembro de 2025**

# **INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

## **MESTRADO EM TECNOLOGIAS LABORATORIAIS EM CIÊNCIAS FORENSES**

### **O USO DA MICOLOGIA FORENSE COMO FERRAMENTA PARA A ESTIMATIVA DO INTERVALO POST-MORTEM**

Trabalho submetido por  
**Stella Lecler Martinez**  
para a obtenção do grau de Mestre em Tecnologias Laboratoriais em  
Ciências Forenses

Trabalho orientado por  
**Professora Doutora Helena Barroso**

**novembro de 2025**

## **DEDICATÓRIA**

Assim como dediquei o meu relatório de estágio, gostaria de dedicar a minha tese, à minha falecida avó Alzira Anna, pois é com muito pesar que finalizo a minha trajetória acadêmica, tanto a licenciatura, tanto o mestrado, sem poder contar-lhe sobre tudo o que aprendi, sobre todas as pessoas que conheci, sobre as aventuras que vivi e sobre a minha trajetória até aqui.

Obrigada por tudo avó, onde quer que você esteja.

## **AGRADECIMENTOS**

Inicialmente gostaria de agradecer ao Instituto Universitário Egas Moniz pela possibilidade e oportunidade de continuar o meu progresso universitário, desde a licenciatura até ao mestrado. Agradeço, também, à minha orientadora Professora Doutora Helena Barroso pela ajuda e orientação do presente trabalho do início ao fim. Agradeço também, à Mestre Daniela Guerreiro, por toda ajuda durante o percurso do desenvolvimento desta tese.

Quero agradecer, ao Professor Doutor Alexandre Quintas, por ser o exemplo de professor que nos deixa com vontade de desenvolver, a cada dia mais, as nossas capacidades. Agradeço, também, ao Professor Doutor Carlos Família, que, graças aos seus conhecimentos informáticos, ajudou muitíssimo durante a formatação deste trabalho e a sua disposição para me auxiliar quando não sabia para onde correr. Obrigada ao Professor Paulo Mascarenhas, que sempre esteve do meu lado nos momentos mais problemáticos e nunca desistiu de mim. Bem como a todos os professores que fizeram parte da licenciatura e do mestrado, obrigada por tudo.

A seguir, quero agradecer a minha mãe, Karin Cristhine, por me ensinar a ser uma pessoa persistente e responsável e ao meu pai, Luiz Carlos, por me ensinar a sempre seguir os meus sonhos. Agradeço à toda a minha família, por serem as pessoas mais bem-humoradas em qualquer momento da vida. Além de todo o apoio que me deram durante a minha vida e percurso académico, vocês são incríveis.

Um obrigada às minhas madrinhas, aos meus afilhados, ao meu namorado, aos meus amigos e aos “residiários”, que ao longo destes 5 anos dentro do Instituto Universitário Egas Moniz, me fizeram perceber que ainda há muitas pessoas no mundo que valem a pena. Mais uma obrigada pelas memórias que criámos e pelas aventuras que vivemos, amo todos vocês!

Por fim, um agradecimento especial para a técnica Daniela Rente, uma pessoa incrível, com um coração enorme (como a sua paciência para os meus breakdowns), foi uma pessoa que me ajudou imenso no desenvolvimento desta experiência, além de, apoiar-me sempre que eu precisava. Não existem muitas pessoas no mundo como ela!

## Declaração de Honra

Código| IMP-EM-EI-111\_00

Declaro, por minha honra, que o presente trabalho académico é original e foi elaborado por mim própria, não se tendo recorrido a quaisquer outras fontes, para além das indicadas, usadas, adotadas literalmente ou adaptados a partir dos seus originais (em fontes impressas, não impressas ou na internet) e encontram-se adequados, identificados e citados, com observância das convenções do trabalho académico em vigor.

Mais declaro que esta Tese “O Uso da Micologia Forense como Ferramenta para Estimativa do Intervalo Post-mortem” não foi apresentada, para efeitos de avaliação, a qualquer outra entidade ou instituição, para além da(s) diretamente envolvida(s) na sua elaboração, e que os conteúdos das versões impressa e eletrónica são inteiramente coincidentes.

Declaro, igualmente, encontrar-me ciente de que a inclusão, neste texto, de qualquer falsa declaração terá consequências legais.

Data: \_\_/\_\_/\_\_

## Declaração Conflito de Interesses (DCI)

Código| IMP-EM-EI-110\_00

Eu Stella Lecler Martinez, referente a Tese “O Uso da Micologia Forense como Ferramenta para Estimativa do Intervalo *Post-mortem*” declaro que não possuo conflitos de interesse de ordem pessoal, comercial, académica, político ou financeiro.

Data: \_\_/\_\_/\_\_

## Declaração de Financiamento

Código | IMP-EM-EI-113\_00

Eu Stella Lecler Martinez, referente a Tese “O Uso da Micologia Forense como Ferramenta para a Estimativa do Intervalo *Post-mortem*” declaro que o meu trabalho se encontra financiado.

O Instituto Universitário Egas Moniz financiou esta tese para compra de 10 cabeças de porco e meios de cultura, totalizando em 500 euros.



## RESUMO

A tanatologia forense desempenha um papel fundamental na investigação criminal, sendo a estimativa do intervalo post-mortem (IPM) um dos seus maiores desafios devido à complexidade e variabilidade do processo de decomposição. Este estudo teve como objetivo avaliar o potencial da micologia forense na estimativa do IPM, analisando o crescimento e a sucessão fúngica em remanescentes biológicos submetidos a diferentes condições ambientais. Para tal, foi utilizado um modelo experimental baseado em cabeças de porco, devido à sua semelhança anatómica e fisiológica com o ser humano, distribuídas em dois grupos: corpos enterrados e não enterrados.

Os resultados demonstraram diferenças significativas na diversidade e predominância de fungos filamentosos e leveduriformes entre os dois cenários. Nos corpos enterrados, destacaram-se géneros como *Fusarium sp.*, *Pseudallescheria sp.*, *Epidermophyton sp.* e *Trichophyton sp.*, associados a intervalos post-mortem específicos. Nos corpos não enterrados, observou-se maior diversidade fúngica, com destaque para *Trichophyton sp.*, *Epidermophyton sp.*, *Alternaria sp.*, *Neoscytalidium sp.* e *Microsporum sp.*, sendo apenas alguns destes relevantes para a estimativa do IPM. Leveduras do género *Candida* foram identificadas em ambos os grupos, mas não apresentaram valor preditivo para a determinação temporal.

De modo geral, os resultados corroboram a literatura existente e indicam que determinados géneros fúngicos podem, futuramente, ser explorados como potenciais marcadores temporais. No entanto, o estudo apresenta limitações relacionadas com a identificação exclusivamente morfológica, reforçando a necessidade da aplicação de técnicas moleculares, como PCR e sequenciação de DNA, bem como a realização de estudos adicionais sob diferentes condições ambientais, para validação e consolidação da micologia forense como ferramenta auxiliar na estimativa do intervalo post-mortem.

**PALAVRAS-CHAVE:** Intervalo Post-mortem (IPM); Micologia Forense; Tanatologia Forense; Modelos suínos; Decomposição cadavérica; Investigação criminal.

## **ABSTRACT**

Forensic thanatology plays a fundamental role in criminal investigations, and estimating the post-mortem interval (PMI) is one of its greatest challenges due to the complexity and variability of the decomposition process. The aim of this study was to evaluate the potential of forensic mycology in estimating the PMI by analyzing fungal growth and succession in biological remains subjected to different environmental conditions. To this end, an experimental model was used based on pig heads, due to their anatomical and physiological similarity to humans, distributed in two groups: buried and unburied bodies.

The results showed significant differences in the diversity and predominance of filamentous and yeast-like fungi between the two scenarios. In the buried bodies, genera such as *Fusarium* sp., *Pseudallescheria* sp., *Epidermophyton* sp. and *Trichophyton* sp. stood out, associated with specific post-mortem intervals. In the unburied bodies, a greater fungal diversity was observed, especially *Trichophyton* sp., *Epidermophyton* sp., *Alternaria* sp., *Neoscytalidium* sp. and *Microsporum* sp., only some of which were relevant for estimating the MPI. Yeasts of the *Candida* genus were identified in both groups, but had no predictive value for determining the time period.

In general, the results corroborate the existing literature and indicate that certain fungal genera could be explored as potential temporal markers in the future. However, the study has limitations related to exclusively morphological identification, reinforcing the need to apply molecular techniques, such as PCR and DNA sequencing, as well as to carry out additional studies under different environmental conditions, in order to validate and consolidate forensic mycology as an auxiliary tool in estimating the post-mortem interval.

**KEYWORDS:** Post-mortem Interval (PMI); Forensic Mycology; Forensic Thanatology; Swine models; Cadaveric decomposition; Criminal investigation.

## ÍNDICE GERAL

|  |    |
|--|----|
| <b>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO</b> .....                               | 7  |
| <b>1. Tanatologia Forense e a Investigação Criminal</b> .....      | 7  |
| <b>1.2 Intervalo <i>Post-Mortem</i> (IPM)</b> .....                | 7  |
| <b>1.3 Métodos para Estimativa do IPM</b> .....                    | 8  |
| <b>1.4 Micologia Forense</b> .....                                 | 10 |
| <b>1.4.1 Métodos de Identificação Fúngica</b> .....                | 13 |
| <b>1.5 Uso dos Porcos como Modelo Animal</b> .....                 | 14 |
| <b>1.6 Objetivos da Experiência</b> .....                          | 14 |
| <b>CAPÍTULO II – MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....                     | 17 |
| <b>2. Materiais</b> .....  | 17 |
| <b>2.1 Materiais Utilizados no Processo Laboratorial</b> .....     | 17 |
| <b>2.2 Materiais Utilizados para o Processo de Escavação</b> ..... | 17 |
| <b>2.3 Desenho Experimental e Amostragem</b> .....                 | 17 |
| <b>2.3.1 Amostras Não Enterradas</b> .....                         | 18 |
| <b>2.3.2 Amostras Enterradas</b> .....                             | 18 |
| <b>2.4 Recolha e Inoculação das Amostras</b> .....                 | 19 |
| <b>2.5 Microrganismos</b> .....                                    | 21 |
| <b>2.5.1 Identificação dos Fungos Filamentosos</b> .....           | 21 |
| <b>2.5.2 Identificação dos Fungos Leveduriformes</b> .....         | 25 |
| <b>2.6 Tratamento dos Resultados</b> .....                         | 26 |
| <b>CAPÍTULO III – RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....                 | 31 |
| <b>3.1 Fungos Filamentosos</b> .....                               | 31 |
| <b>3.1.1 Porcos Enterrados</b> .....                               | 31 |
| <b>3.1.2 Porcos Não Enterrados</b> .....                           | 36 |
| <b>3.2 Fungos Leveduriformes</b> .....                             | 40 |
| <b>3.2.1 Porcos Enterrados</b> .....                               | 40 |
| <b>3.2.2 Porcos Não Enterrados</b> .....                           | 41 |
| <b>CAPÍTULO IV – CONCLUSÃO</b> .....                               | 43 |
| <b>CAPÍTULO V – REFERÊNCIAS</b> .....                              | 45 |

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 – Em (A) hipóstase post-mortem na distribuição normal. As áreas pálidas são resultado da pressão exercida sobre as mesmas, contra alguma superfície dura. Em (B) verifica-se o braço esquerdo estendido para o ar e o braço direito posicionado em cima do peito, ambos os braços apresentam rigidez cadavérica. Imagens retiradas e adaptadas de Knight, 2004 e DiMaio, 2001, respetivamente. .... | 9  |
| Figura 2 – Representação do ciclo de vida de uma mosca, desde os ovos (huevos) até o estágio adulto. Imagem retirada e adaptada do Google Imagens. ....  | 9  |
| Figura 3 – Em (A) está representado uma espécie de cogumelos. Em (B) o morango está contaminado com algum tipo de bolor. Em (C) é possível verificar líquen em um tronco de árvore. Por fim, em (D), encontra-se uma espécie de levedura. ....   | 10 |
| Figura 4 – Disposição real das cabeças de porco NE e respetivas numerações. ....   | 18 |
| Figura 5 – Disposição real das cabeças de porco E e respetivas numerações. ....  | 19 |
| Figura 6 – Esquema das inoculações das amostras. ....  | 20 |
| Figura 7 – Esquema indicativo da forma da preparação das alíquotas, para cada uma das amostras. ....   | 20 |
| Figura 8 – Em (A), o fungo do género <i>Alternaria</i> sp., retirado da placa X1B – NE5 – T7, observado na objetiva de 40X. Em (B), foto do fungo do mesmo género retirado e adaptado de The University of Adelaide (2023). As setas a preto indicam os conídios multicelulares. ....  | 21 |
| Figura 9 – Em (A) está representado o fungo <i>Penicillium</i> sp., encontrado na placa X1P – E1 – T1. Em (B), está representado o fungo do mesmo género, sendo que esta fotografia foi retirada e adaptada do Atlas de Micologia (CHUC, 2024). As setas a preto apontam para as fiálides e as setas em azul apontam para os conídios. ....  | 22 |
| Figura 10 – Em (A) é apresentado o fungo do género <i>Mucor</i> sp., encontrado na placa X1B – NE4 – T8, em (B), também, se encontra o género <i>Mucor</i> sp., sendo que esta fotografia foi retirada e adaptada da literatura, Atlas de Micologia (CHUC, 2024). Ambas as setas a preto apontam para os esporângios. ....   | 22 |
| Figura 11 – Em (A) esta representado o fungo do género <i>Fusarium</i> sp., retirado da placa X1B – E2 – T2. Em (B), também se encontra o mesmo género sendo que esta fotografia foi retirada e adaptada da literatura, Atlas de Micologia (CHUC, 2024). Ambas as setas roxas apontam para as fiálides e ambos os círculos a vermelho destacam os microconídios. ....  | 23 |

- Figura 12 – Em (A) está o fungo *Aspergillus* sp., retirado da placa X2B – NE1 – T6. Em (B), também, encontra-se o mesmo género, sendo que esta fotografia foi retirada e adaptada da literatura Atlas de Micologia (CHUC, 2024). Ambas as setas azuis apontam para os conídios e ambos os círculos em preto destacam as vesículas..... 23
- Figura 13 – Em (A) esta fotografado o género *Neoscytalidium* sp., retirado da placa X10 – NE3 – T9. Em (B), esta fotografado o mesmo género, sendo que a fotografia foi retirada e adaptada da literatura Atlas da Micologia (CHUC, 2024). Em ambas as imagens, é possível identificar as hifas cenocíticas e algumas delas são ligeiramente arredondadas. .... 24
- Figura 14 – Em (A) a fotografia mostra o género *Sporothrix* sp., retirado da placa X10 – NE4 – T9. Em \*B) outra fotografia mostra o mesmo género, retirada e adaptada da literatura Atlas da Micologia (CHUC, 2024). Ambas as setas em azul apontam para as hifas muito finas e os círculos em vermelho destacam os conídios. .... 24
- Figura 15 – Colónias de *Candida albicans* retiradas da placa X1 e X2, dos replicados efetuados nas orelhas do porco NE3, no tempo 3..... 25
- Figura 16 – Colónias circuladas em vermelho indicam as possíveis espécies *Candida tropicalis*, *Candida lusitaniae* e *Candida kefyr* encontradas na placa X1B – NE2 – T2. 25
- Figura 17 – Fotografia retirada da placa X1B – E4 – T0, na qual o círculo a vermelho destaca uma colónia branca do género *Candida* sp. .... 26

## **ÍNDICE DE TABELAS**

|   |    |
|---|----|
| Tabela 1 – Tabela contendo os tempos de T0 a T9, as respetivas datas de recolha e amostras recolhidas dos porcos enterrados e não enterrados. ....  | 19 |
| Tabela 2 – A tabela (A) indica a amostra, o género, a quantidade, os UFC/pz e os replicados X1N a X2B para o porco E1n no T1. A tabela (B) indica a amostra, o género, a quantidade, UFC/pz e os replicados de X1N, uma vez que os replicados X2N a X2B não apresentaram crescimentos. .... | 27 |
| Tabela 3 – Separação das UFC/pz para o fungo <i>Fusarium</i> sp, contendo a média de cada replicado (nariz, orelhas e bochechas), para cada um dos tempos (0 a 5), média total e o STD e dos porcos <b>E1 a E5</b> . ....   | 28 |
| Tabela 4 – Separação das UFC/pz para o fungo <i>Fusarium</i> sp, contendo a média de cada replicado (nariz, orelhas e bochechas), para cada um dos tempos (0 a 9), média total e o STD e dos porcos NE1 a NE5. ....   | 28 |
| Tabela 5 – A Tabela (A) indica a quantidade, UFC/pz e o total de colónias das placas X1N a X2N, no T0, no porco E1. Na Tabela (B), apresenta a quantidade, UFC/pz e o total das placas X1N e X2N, no T0, no porco NE1. ....   | 28 |
| Tabela 6 – Separação das UFC/pz entre <i>Candida albicans</i> e <i>Candida</i> sp., contendo a média total e o STD dos tempos 0 a 5 (em dias), das amostras dos porcos <b>E1 a E5</b> . ....  | 29 |
| Tabela 7 – Separação das UFC/pz entre <i>Candida albicans</i> e <i>Candida</i> sp., contendo a média total e o STD dos tempos 0 a 9 (em dias), das amostras dos porcos <b>NE1 a NE5</b> . ....  | 29 |
| Tabela 8 – Géneros de bolores que foram isolados nos porcos na recolha de controlo, ou seja, em T0. A tabela contém o tempo em dias, as amostras, os géneros e as UFC/pz. .   | 31 |
| Tabela 9 – Géneros de bolores que foram isolados nas amostras enterradas, ou seja, de T0 a T5. A tabela, também, contém a amostra e as UFC/pz. ....   | 32 |

## **CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO**

### **1. Tanatologia Forense e a Investigação Criminal**

A Tanatologia Forense é um campo fundamental das ciências forenses, cujo objetivo é o estudo dos aspetos relacionados a morte de um indivíduo. A morte é definida pela cessação das atividades vitais do corpo humano, contudo, essa ausência de atividade vital, pode ser por motivos naturais ou suspeitos. A primeira é denominada em diversas literaturas como morte natural, ou seja, é sucedida por causas naturais ou processos patológicos, como por exemplo envelhecimento do organismo ou doenças terminais (Santos, 2004). Em contrapartida, a morte violenta, pode ter ocorrido por homicídio, suicídio ou até mesmo mero acidente. Contudo, para que seja possível chegar a uma conclusão, é imprescindível que seja realizada uma investigação criminal acerca do falecimento (Bittar, 2022; Santos, 2004).

A investigação criminal tem como objetivo a reconstrução de determinada cena de crime, para assim obter a identificação tanto da vítima, tanto do suspeito (Bittar, 2022; Garrido & Naia, 2014). A fim da investigação ser bem-sucedida, é necessário que os peritos criminais tenham alguns conhecimentos acerca das informações sobre os remanescentes, do local do crime, do intervalo *post-mortem* (IPM), do modo da morte, das condições ambientais, entre outros. Além disso, também, precisam conhecer os diferentes fenómenos cadavéricos, uma vez que estes processos acontecem de forma sequencial e podem dificultar a análise médico-legal (DiMaio, 2006; Ferreira et al., 2012; Garrido & Naia, 2014; Knight, 2004).

A tanatologia forense é um complemento muito importante na investigação criminal, para auxiliar na busca de informações relativamente à morte da vítima. Contudo, mesmo que este campo possua muitos avanços, a determinação de alguns aspetos, continua a ser um desafio enfrentado pelos peritos forenses, como por exemplo a determinação do IPM (DiMaio, 2006; Ferreira et al., 2012, Knight, 2004).

#### **1.2 Intervalo *Post-Mortem* (IPM)**

Um dos pontos cruciais para a investigação é a estimativa do IPM, ou seja, o período em que os remanescentes ficam expostos a quaisquer condições que possam acelerar ou retardar o processo de decomposição, até o momento em que é encontrado (INTERPOL,

2018). Esta estimativa é muito importante para a investigação, pois ajuda na reconstrução dos eventos, circunstâncias da morte, conexão de um determinado suspeito ou vítima à cena de crime, além da identificação do cadáver e condenação ou não, do suspeito em questão, além da identificação de locais de deposição clandestinos e corroboração de depoimentos de testemunhas (Szelec, 2014; Forger, 2019; Iqbal, 2020).

No entanto, existem alguns fatores que podem contribuir para a decomposição, e, conseqüentemente para a estimativa do IPM, sendo eles; a causa de morte, o local onde o cadáver foi encontrado e as condições ambientais. Envolve, também, processos de natureza abiótica, como a temperatura e a humidade, e os processos bióticos como a interferência de artrópodes, de bactérias, dos fungos, da fauna e da flora (Filho, 2008; Pinheiro, 2012). Além destes pode-se destacar fatores antropogénicos como ferimentos *ante/post-mortem*, presença/ausência de vestuário e por último o modo de enterramento no solo (fundo ou raso) ou em meio aquático - submerso em água, como rios, lagos, mar, etc. (Iqbal, 2020). Por estes motivos, o processo de decomposição é complexo e inconstante, podendo trazer algumas complicações no momento da estimativa (Garrido & Naia, 2014; Zhao, 2022).

### **1.3 Métodos para Estimativa do IPM**

Os métodos tradicionais utilizados para a estimativa do IPM baseiam-se nos fenómenos cadavéricos abióticos e transformativos. Fenómenos como *algor mortis* (arrefecimento cadavérico), *livor mortis* (hipóstase cadavérica – Figura 1A) e *rigor mortis* (rigidez cadavérica – Figura 1B), são amplamente estudados e aplicados. Contudo, cada um destes apresentam limitações significativas: o *algor mortis* pode ser influenciado por factores externos, como a temperatura ambiente e a presença de vestimentas, dificultando a precisão do cálculo (DiMaio, 2006). O *livor mortis* pode ser interrompido ou mascarado pelo movimento do corpo após a morte, e por fim, o *rigor mortis* varia de acordo com os aspetos fisiológicos do indivíduo e do ambiente (Knight, 2004). Estas variações frequentemente resultam em estimativas de tempo amplas e de menor fiabilidade (Knight, 2004).

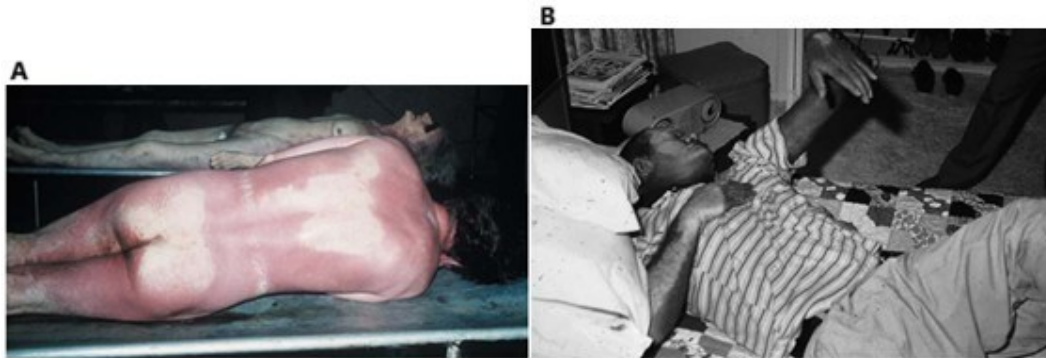


Figura 1 – Em (A) hipóstase *post-mortem* na distribuição normal. As áreas pálidas são resultado da pressão exercida sobre as mesmas, contra alguma superfície dura. Em (B) verifica-se o braço esquerdo estendido para o ar e o braço direito posicionado em cima do peito, ambos os braços apresentam rigidez cadavérica. Imagens retiradas e adaptadas de Knight, 2004 e DiMaio, 2001, respetivamente.

Os peritos utilizam o cruzamento de informações entre as diferentes áreas do conhecimento para auxiliar na estimativa do IPM. Áreas essas em que pode destacar a Antropologia Forense, a Entomologia Forense, a Botânica Forense, a Química e Toxicologia Forense, a Genética Forense e a Microbiologia Forense (Filho, 2008).

A Entomologia Forense, baseia-se no ciclo de vida de insetos necrófagos (Figura 2), como as moscas, para inferir o IPM (Iqbal, 2020). Por outro lado, a Química Forense examina compostos orgânicos e inorgânicos associados à decomposição (Szelecz, 2014). Ademais, a investigação criminal se beneficia da Antropologia Forense, já que este método extrai informações específicas sobre a vítima através dos remanescentes esqueléticos (Cunha, 2024).

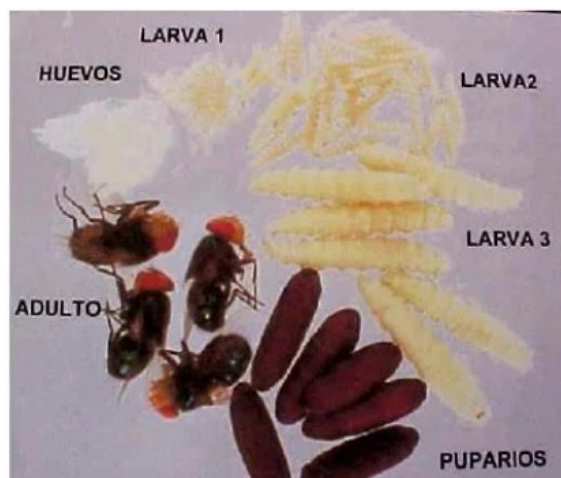


Figura 2 – Representação do ciclo de vida de uma mosca, desde os ovos (huevos) até o estágio adulto. Imagem retirada e adaptada do Google Imagens.

Todavia, cada um dos métodos citados acima, possuem as suas limitações, como por exemplo, a Entomologia Forense está limitada pela necessidade de condições específicas, como a temperatura e a presença de uma fauna local para habitar o corpo (Iqbal, 2020). Entretanto, a Química Forense enfrenta alguns desafios relacionados com a complexidade do processo de análise e à influência de variáveis externas a decomposição do corpo (Szelez, 2014). Contudo, a Antropologia Forense trata-se de uma metodologia mais voltada para os ossos e dentes (da Silva et al., 2023).

Sendo assim, as metodologias estão em constante expansão a fim de auxiliar cada vez mais neste cálculo (Garrido & Naia, 2014). Neste contexto, a Micologia Forense tem sido cada vez mais estudada e indicada como uma área promissora e em expansão (Hawksworth, 2011).

#### **1.4 Micologia Forense**

A palavra Micologia é proveniente do grego *mykes* (cogumelo) + *logos* (estudo), o que significa o estudo dos cogumelos, sendo por muitos anos os únicos fungos conhecidos (Ferreira et al., 2012). Sendo assim, a micologia pode ser definida como o ramo da microbiologia que estuda os fungos, patogênicos ou não, incluindo bolores, cogumelos, líquenes, leveduras, entre outros – figura 3 (Hawksworth, 2011). O estudo dos fungos é muito relevante, uma vez que estes desempenham um papel fundamental nas indústrias alimentar e farmacêutica, participando na produção de alimentos, bebidas, antibióticos, enzimas, entre outros produtos (Abreu, 2015). Além disso, são seres que decompõem a matéria orgânica como forma de obtenção de alimento (Ferreira et al., 2012).



Figura 3 – Em (A) está representado uma espécie de cogumelos. Em (B) o morango está contaminado com algum tipo de bolor. Em (C) é possível verificar líquen em um tronco de árvore. Por fim, em (D), encontra-se uma espécie de levedura.

Foi observado por patologistas forenses que os fungos podem ser saprófitos, ou seja, alimentam-se de matéria orgânica, influenciando, assim, a decomposição dos restos humanos, e, estando esta área de estudo, cada vez mais, explorada como ferramenta forense (Backtell, 2022; Ferreira et al., 1973; Hitosugi, 2006). À semelhança da Entomologia Forense, que recorre ao estudo dos artrópodes e insetos associados aos remanescentes, a Micologia Forense utiliza a análise dos fungos que proliferam no cadáver como ferramenta auxiliar na determinação de parâmetros relevantes, tal como a estimativa do IPM, a deteção do consumo de substâncias ilícitas, substâncias venenosas, a localização geográfica, entre outros fatores (Costa, 2017; Goebel, 2013).

Existem registos da aplicação da Micologia Forense em investigações criminais, nomeadamente no Japão, onde esta área foi utilizada na investigação do cogumelo *Psilocybe subcubensis* (Gonmori & Yoshioka, 2003). Adicionalmente, foi reportado um caso envolvendo um homem de 75 anos e a sua esposa, ambos hospitalizados com sintomas de intoxicação após o consumo do cogumelo *Amanita virosa* durante refeições consecutivas, tendo resultados no óbito da esposa (Gonmori & Yoshioka, 2003).

Os fungos, por serem organismos ubíquos (disseminados por toda a parte) e altamente adaptáveis, desempenham um papel essencial na degradação de tecidos humanos, já que decompõem a matéria orgânica em busca de alimento (Hawksworth, 2011). São encontrados em diversos locais, e, ao mesmo tempo podem ser indicativos de locais específicos, podem ser recolhidos e analisados em diferentes cenários de interesse forense para determinação do IPM (Hawksworth, 2011; Tambuzzi, 2023).

Desta forma, a Micologia Forense, aplica o estudo dos fungos saprófitas para fins forenses, explorando e estudando como estes microrganismos interagem com restos mortais e como influenciam os processos de decomposição (Hawksworth, 2011). Estudos recentes apontam que o padrão de crescimento fúngico, associado a factores ambientais específicos, pode fornecer informações valiosas sobre o IPM (Goebel, 2013). Além disso, a análise de fungos pode complementar técnicas tradicionais, especialmente em cenários onde outros métodos não sejam viáveis ou forneçam dados inconclusivos (Tambuzzi, 2023).

Um dos primeiros casos reportados utilizando a Micologia Forense para determinar o IPM foi realizado por Voorde e Van Dijck em 1982, no qual uma baronesa foi encontrada morta em seu quarto. Graças ao crescimento de fungos na pálpebra direita e na pele da

vítima, ou autores decidiram realizar culturas de fungos em condições controladas, com temperaturas de 12°C (semelhantes à cena do crime) a fim de simular os acontecimentos no cadáver da baronesa. Neste caso, os autores inocularam alguns géneros como *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., também, chegaram a conclusão de que o crescimento fúngico depende da temperatura e inoculação, e, embora o método seja impreciso, pode ser eficaz em condições favoráveis. Além disso, este experimento, ajudou a investigação determinar que o crime ocorreu 18 dias antes da descoberta do corpo da vítima (Voorde & Van Dijck, 1982).

O uso da Micologia Forense não termina em Voorde e Van Dijck (1982), segundo Santos et al. (2024), outro caso em 1996, colocou em prática esta metodologia. Uma jovem foi encontrada morta em seu apartamento, com determinado grau de mumificação e presença de mofo verde-azulado. Um micologista inoculou amostras nas condições semelhantes ao que o corpo foi encontrado (4°C) e outras amostras em temperaturas ambientes (21°C – 24°C), por fim identificando os géneros *Penicillium* sp. e *Mucor* sp. Ao comparar as taxas de crescimento, o micologista chegou à conclusão de que o crime havia ocorrido, no mínimo, três/quatro semanas antes de encontrarem a vítima. O resultado corroborou com a investigação criminal, levando a prisão perpétua de um homem (Santos et al., 2024).

O aparecimento de espécies fúngicas e a sua evolução ao longo do tempo podem fornecer indicadores do avanço da decomposição. Estudos em cadáveres humanos e modelos animais descrevem géneros como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida*, *Mucor* e *Cladosporium* em diferentes estágios da decomposição, embora o padrão de sucessão ainda não esteja plenamente estabelecido e pareça depender fortemente das condições ambientais e do contexto de cada caso (de Andrade, 2024).

Outro momento para o uso da Micologia Forense pode ser na localização de sepultamentos clandestinos, por meio da análise das alterações do solo onde ocorre a decomposição do cadáver. Para isso, é preciso isolar e identificar a micobiota do solo sob os remanescentes, avaliando a interação com as condições ambientais. Os corpos de frutificação não surgem imediatamente após o enterramento, reforçando a importância de compreender a sucessão das comunidades fúngicas durante o processo de decomposição (Steffy, 2023).

A Micologia Forense, tem relevância em casos de toxicologia, como citado por Ruiz e Font (2007) e de Andrade (2024), as micotoxicoses são intoxicações causadas por micotoxinas (metabólitos tóxicos derivados de fungos) prejudiciais a saúde, encontradas em alimentos contaminados. Algumas espécies como *Aspergillus flavus* e *Claviceps purpúrea* produzem este tipo de toxinas, o que torna a análise dos alimentos contaminados crucial para investigações criminais, pois pode identificar fungos específicos.

#### **1.4.1 Métodos de Identificação Fúngica**

Os fungos podem ser unicelulares e multicelulares eucariotas (Ferreira et al., 2012). Os fungos multicelulares são formados principalmente por um único tipo celular fundamental chamada hifa, estrutura tubular filamentosa (Santos et al., 2024). As hifas podem ser septadas (divididas por paredes transversais chamadas septos) ou cenocíticas (contínuas, sem divisões) (Ferreira et al., 2010; Santos et al., 2024). Por outro lado, os fungos unicelulares, ou leveduras, são formados por pseudohifas, estruturas que se multiplicam, mas permanecem unidas (Ferreira et al., 2012; Péclat et al.). Portanto, a diversidade fúngica se trata dos diferentes tipos de estruturas e das formas de organização das hifas (Ferreira et al., 2012; Santos et al., 2024; Péclat et al.).

Uma vez que existem milhares de espécies descritas e para que seja possível sua identificação precisa, são necessários métodos para esta identificação. Uma revisão da literatura realizada por Péclat e colaboradores (N.D) apresentou algumas técnicas como espectrometria de massa, identificação molecular de fungos, reação em cadeia de polimerase (PCR), imunofluorescência, imuno-deteção de antígenos fúngicos, meios de cultura, técnicas de amplificação isotérmica de ácidos nucleicos, entre outros testes.

Todas as técnicas apresentadas possuem as suas vantagens e desvantagens, como por exemplo, rápida identificação, especificidade, sensibilidade, também podem ter elevados custos, mão de obra especializada ou riscos de falsos negativos (Péclat et al., N.D.).

Apesar de o PCR ser a técnica mais confiável e sensível, é um processo de alto custo, sendo assim, no presente trabalho foi optado pelo uso de meios de cultura e análise morfológica macroscópica já que são técnicas específicas para a identificação de espécies e de baixo custo.

### **1.5 Uso dos Porcos como Modelo Animal**

Os modelos animais são utilizados como modelos de estudo para entender a fisiologia e a anatomia humana, desde há muito tempo. Já Galen (físico e filósofo grego), o fazia no século 16. Estes modelos são importantes na investigação e desenvolvimento de tratamentos apropriados para as doenças humanas, sendo comumente utilizado camundongos. Além destes, os cães também podem ser considerados um modelo animal já que possuem algumas similaridades anatómicas e fisiológicas com os seres humanos, como por exemplo o sistema cardiovascular urogenital, nervoso muscular e esquelético (Kuzmuk, 2010).

Contudo, cada vez mais, a ciência percebe que estes modelos não refletem de forma suficiente a biologia humana, e, é por isso que o uso de outros modelos animais vem sendo estudados. Por exemplo, o uso de suínos como modelo animal tem-se tornado relevante devido à sua semelhança anatómica, genética e fisiológica com os seres humanos (Bendixen, 2010; Van de Vliet, 2022). Como é descrito em Douglas (1971) a pele dos porcos e dos humanos são muitíssimo parecidas, mesmo que a pele humana seja ligeiramente mais fina, além de que, ambos possuem uma camada capilar dispersa e um vasto teor de tecido elástico.

Acresce que os porcos e os seres humanos dispõem de muitas parecenças como tamanho, alimentação e dietas alimentares, fisiologia do sistema digestivo, estrutura e funções renais, entre outras similaridades. Além destas, os porcos e os humanos possuem outras semelhanças como a anatomia e fisiologia de órgãos como o fígado, pâncreas, rins e coração o que os torna ainda mais, uma espécie primária de interesse (Kuzmuk, 2010).

Neste contexto, o suíno foi escolhido como modelo para o presente trabalho.

### **1.6 Objetivos da Experiência**

O objetivo geral do presente trabalho consiste em avaliar o potencial da Micologia Forense como ferramenta auxiliar na estimativa do IPM, através da análise do crescimento e da sucessão fúngica nos remanescentes suínos que foram submetidos às condições climáticas.

De modo mais específico, pretendeu-se analisar a diversidade dos fungos filamentosos e leveduriformes ao longo do processo de decomposição, assim como

comparar o crescimento fúngico em corpos enterrados (E) e não enterrados (NE), identificando as diferenças associadas nas amostras. Visa-se ainda identificar os géneros fúngicos predominantes nas diferentes fases da decomposição e avaliar a possível associação entre determinados géneros e IPM.

Adicionalmente, procurou-se verificar a relevância dos fungos leveduriformes, nomeadamente do género *Candida sp.*, na estimativa do IPM, assim como contribuir para o desenvolvimento da Micologia Forense enquanto área complementar da investigação criminal.

Portanto, este estudo procura não apenas suprir lacunas do conhecimento na área da Micologia Forense, mas também estabelecer uma base para futuros avanços e aplicações da mesma. Com o aumento do número de investigações nesta área, é possível visualizar avanços significativos na utilização da Micologia Forense, especialmente na identificação de padrões consistentes de crescimento fúngico que atuem como indicadores precisos do intervalo *post-mortem*.



## CAPÍTULO II – MATERIAIS E MÉTODOS

### 2. Materiais

#### 2.1 Materiais Utilizados no Processo Laboratorial

Durante a realização da componente laboratorial do presente trabalho, foram utilizados os seguintes materiais: espalhadores de plásticos estéreis, zaragatoas estéreis, tubos de *Falcon* com volume final (Vf) de 15 e 50 mL, meios de cultura *Sabouraud Chloramphenicol Agar* (SCA) Biokar *diagnostics* e meios de cultura *CHROMID Candida Agar* (CCA ou CAN2) bioMérieux SA. Foram ainda utilizados micropipetas de 100 µL, 1000 µL, e pontas respectivas, vórtex, lâminas, lamelas e ansas de plástico estéreis. Todos os ensaios foram efetuados em câmara de segurança biológica Telstar Bio II Advance Plus.

#### 2.2 Materiais Utilizados para o Processo de Escavação

No procedimento no campo, ou seja, na escavação das covas para as cabeças de porco, foram necessários os seguintes materiais: uma enxada e uma pá sendo ambas disponibilizados pelo Instituto Universitário Egas Moniz.

#### 2.3 Desenho Experimental e Amostragem

A fim de realizar este experimento, foi disponibilizado pelo Instituto Universitário Egas Moniz, um terreno que não é utilizado, localizado nas premissas da faculdade nas traseiras da Residência Universitária Egas Moniz. Usando como auxílio a ferramenta *Google Maps*, foi possível identificar a localização do terreno, que se encontra na morada Rua Bairro da Figueira, número 39 (38.668248, -9.201763).

Foram definidos dois grupos de estudo, os porcos não enterrados (NE) e os porcos enterrados (E). O objetivo foi obter resultados em diferentes ambientes, permitindo assim, realizar uma comparação do crescimento dos fungos tanto num corpo exposto às condições climáticas, como num corpo exposto aos microrganismos da terra. Para cada grupo, foram utilizadas 5 cabeças de porco, totalizando 10 amostras (Figuras 4 e 5).

As 10 amostras (10 cabeças de porco) foram obtidas de porcos mortos na madrugada do dia 12 de março de 2024. As mesmas foram recolhidas entre as 10 e 11 horas da manhã do mesmo dia, no Talho e Charcutaria Luso Francês, localizado na rua Morais Soares, número 89 A, Lisboa.

### **2.3.1 Amostras Não Enterradas**

As amostras de porco NE, foram dispostas de forma que ficassem três atrás e duas à frente, sendo nomeadas de NE1, NE2, NE3, NE4 e NE5, como apresentado na figura 4. Foi colocada sobre as cabeças uma proteção de metal com buracos hexagonais para evitar qualquer interação de grandes predadores.



Figura 4 – Disposição real das cabeças de porco NE e respetivas numerações.

### **2.3.2 Amostras Enterradas**

As cabeças de porco E foram enterradas de forma que as cinco formasse uma linha reta, sendo denominadas de E1, E2, E3, E4 e E5, como apresentado pela figura 5. O tamanho das respetivas covas foi o suficiente para que as cabeças de porco coubessem dentro das mesmas e ficassem completamente tapadas.



Figura 5 – Disposição real das cabeças de porco E e respectivas numerações.

## 2.4 Recolha e Inoculação das Amostras

As recolhas das amostras foram efetuadas com zaragatoas estéreis. Os tempos de colheita foram definidos como descrito na tabela 1. Na tabela encontram-se, também, as datas correspondentes aos tempos e as amostras recolhidas em cada tempo. Ao longo da experiência as cabeças E eram analisadas apenas 1 vez, enquanto as cabeças NE foram analisadas em todos os tempos. Sendo assim, no tempo 0 (T0) foram efetuadas colheitas de todas as cabeças, no tempo 1 (T1) foram efetuadas colheitas nas cabeças E1 e NE1. No tempo 2 (T2) foram obtidas amostras das cabeças E2, NE1 e NE2 e assim sucessivamente.

As colheitas foram realizadas em três áreas distintas da cabeça, sendo elas o nariz, as orelhas e as bochechas. Essas áreas foram selecionadas uma vez que são áreas mais húmidas e mais propensas à proliferação de fungos.

Tabela 1 – Tabela contendo os tempos de T0 a T9, as respetivas datas de recolha e amostras recolhidas dos porcos enterrados e não enterrados.

| Tempo (T) | Data   | Recolha      |
|-----------|--------|--------------|
| T0        | 12/mar | Todas        |
| T1        | 15/mar | E1 + NE1     |
| T2        | 19/mar | E2 + NE1 e 2 |
| T3        | 22/mar | E3 + NE1 a 3 |
| T4        | 26/mar | E4 + NE1 a 4 |
| T5        | 29/mar | E5 + NE1 a 5 |
| T6        | 02/abr | NE1 a 5      |
| T7        | 05/abr | NE1 a 5      |
| T8        | 09/abr | NE1 a 5      |
| T9        | 12/abr | NE1 a 5      |

As zaragoas após colheita foram preservadas dentro de tubos *Falcon* contendo 3 mL de água peptonada (APTE).

Após a colheita, as amostras foram transportadas para o laboratório e as inoculações dos diferentes meios de cultura eram efetuadas no mesmo dia. Estas foram efetuadas numa câmara de segurança nível II. Antes das inoculações, as amostras foram agitadas num vórtex durante 1 minuto, para garantir que o conteúdo recolhido pela zaragatoa era liberado e homogeneizado. Em cada meio foram inoculados 100  $\mu$ L de amostra.

As inoculações foram efetuadas por espalhamento nos dois meios SCA (Sabouraud com cloranfenicol) e CCA (meio cromogénico para *Candida*) (Figura 6), com auxílio do espalhador de plástico. Os meios foram incubados numa estufa a 25°C/5 dias e 25°C/48h respetivamente.

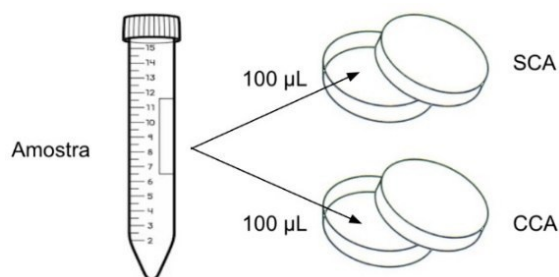


Figura 6 – Esquema das inoculações das amostras.

Foram ainda efetuadas alíquotas de cada amostra, contendo 1000  $\mu$ L em tubos de *ependorf*, e congeladas a uma temperatura de -20°C (Figura 7). A presente metodologia foi seguida para todas as amostras em todos os tempos, T0 a T9.

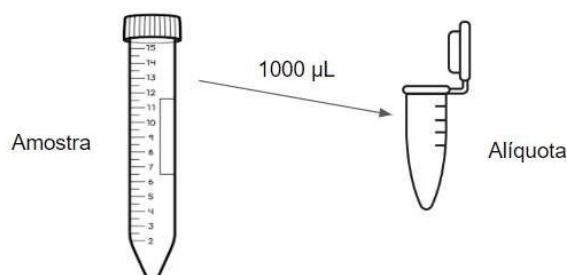


Figura 7 – Esquema indicativo da forma da preparação das alíquotas, para cada uma das amostras.

## 2.5 Microorganismos

### 2.5.1 Identificação dos Fungos Filamentosos

A identificação fúngica foi efetuada por observação das características macroscópicas e microscópicas das colónias obtidas nos crescimentos resultantes das inoculações.

Para a caracterização microscópica foram efetuados exames a fresco com azul de Lactofenol, sendo os mesmos observados utilizando as objetivas de 40X e 100X (sendo que para essa última, uma gota de óleo de imersão era adicionada por cima da lamela).

A identificação dos bolores foi realizada através da observação microscópica das suas estruturas, como os conídios, os esporos e as hifas. Na figura 8 podem observar-se os conídios característicos do género *Alternaria sp.*, identificada na amostra X1B – NE5 – T7.

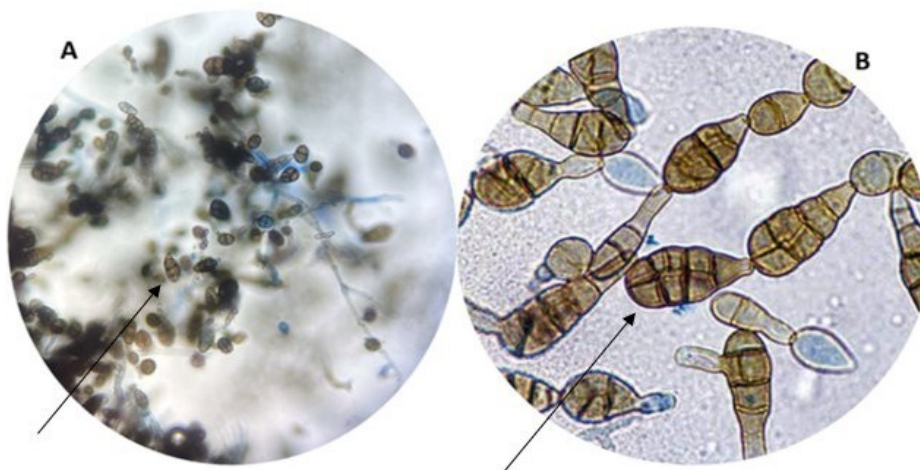


Figura 8 – Em (A), o fungo do género *Alternaria sp.*, retirado da placa X1B – NE5 – T7, observado na objetiva de 40X. Em (B), foto do fungo do mesmo género retirado e adaptado de *The University of Adelaide* (2023). As setas a preto indicam os conídios multicelulares.

Outro exemplo encontrado dentre as amostras, foi o género *Penicillium sp.*, que foi encontrado na amostra X1O – E1 – T1 (Figura 9). As setas a preto apontam para as fiálides e as setas azuis apontam para os conídios do fungo.

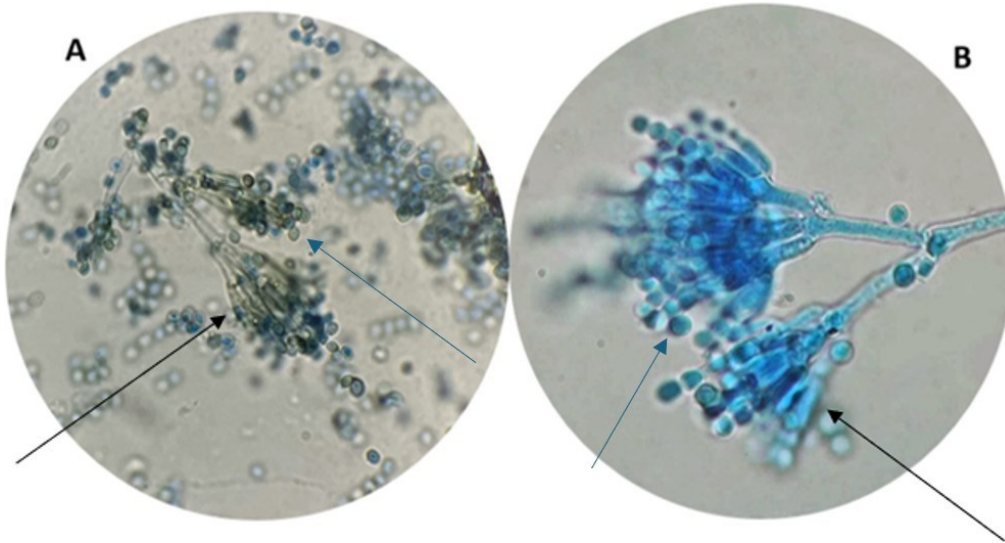


Figura 9 – Em (A) está representado o fungo *Penicillium sp.*, encontrado na placa X1P – E1 – T1. Em (B), está representado o fungo do mesmo gênero, sendo que esta fotografia foi retirada e adaptada do Atlas de Micologia (CHUC, 2024). As setas a preto apontam para as fiálides e as setas em azul apontam para os conídios.

Um terceiro exemplo encontrado foi o fungo do gênero *Mucor sp.*, presente na placa X1B – NE4 – T8 (Figura 10), sendo que as setas a preto apontam para os esporângios.

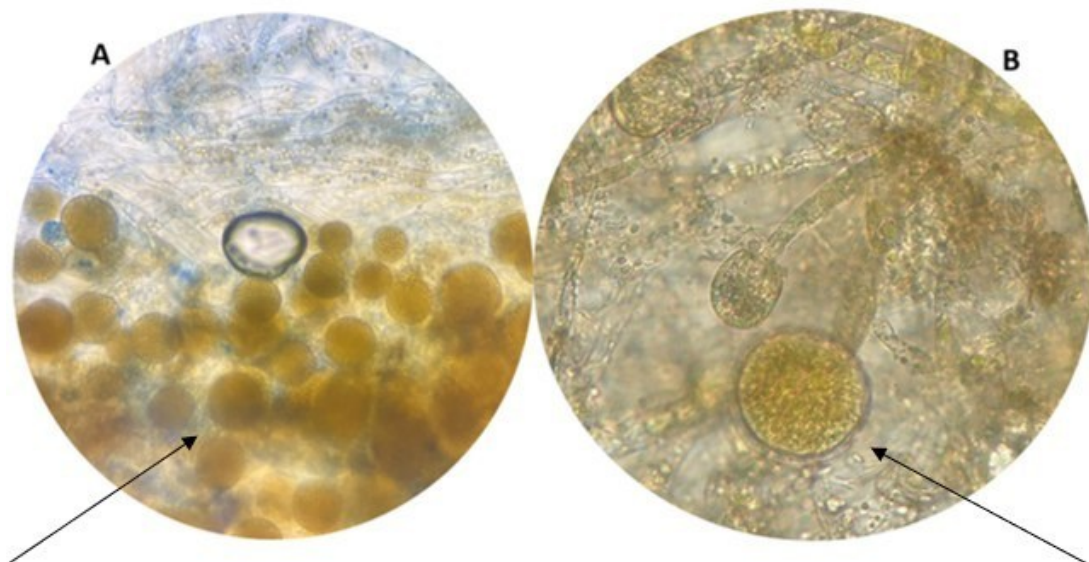


Figura 10 – Em (A) é apresentado o fungo do gênero *Mucor sp.*, encontrado na placa X1B – NE4 – T8, em (B), também, se encontra o gênero *Mucor sp.*, sendo que esta fotografia foi retirada e adaptada da literatura, Atlas de Micologia (CHUC, 2024). Ambas as setas a preto apontam para os esporângios.

Outro exemplo que foi encontrado numa amostra, trata-se do género *Fusarium sp.*, encontrado na placa X1B – E2 – T2. Na figura 11 as setas roxas apontam para as fiálides e os círculos vermelhos destacam os microconídios.

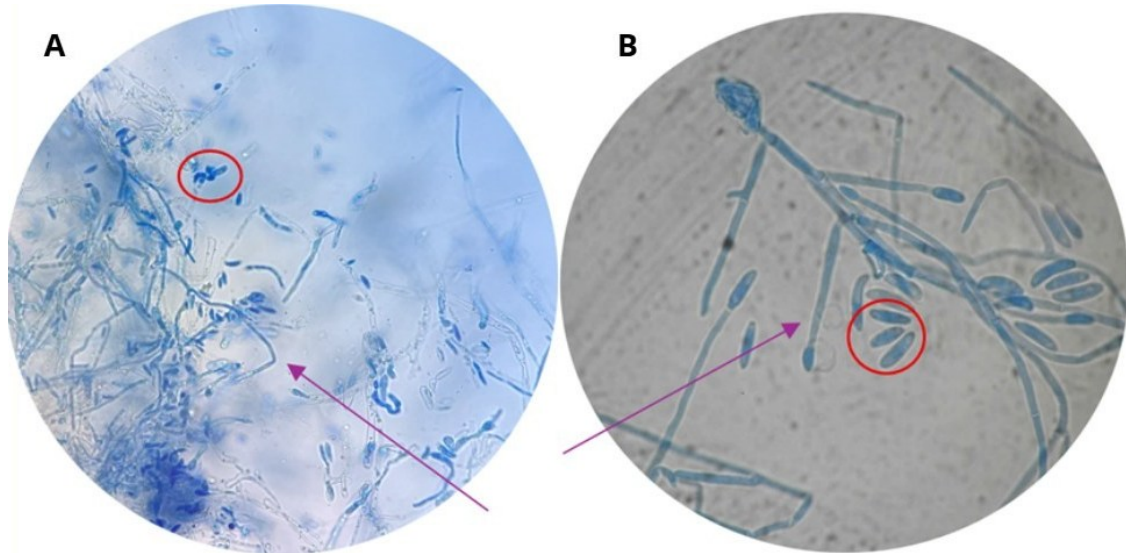


Figura 11 – Em (A) esta representado o fungo do género *Fusarium sp.*, retirado da placa X1B – E2 – T2. Em (B), também se encontra o mesmo género sendo que esta fotografia foi retirada e adaptada da literatura, Atlas de Micologia (CHUC, 2024). Ambas as setas roxas apontam para as fiálides e ambos os círculos a vermelho destacam os microconídios.

O género *Aspergillus sp.*, foi encontrado dentre as amostras desta experiência – placa X2B – NE1 – T6, representado na figura 12, sendo que as setas azuis apontam para os conídios e os círculos em preto destacam as vesículas deste fungo.

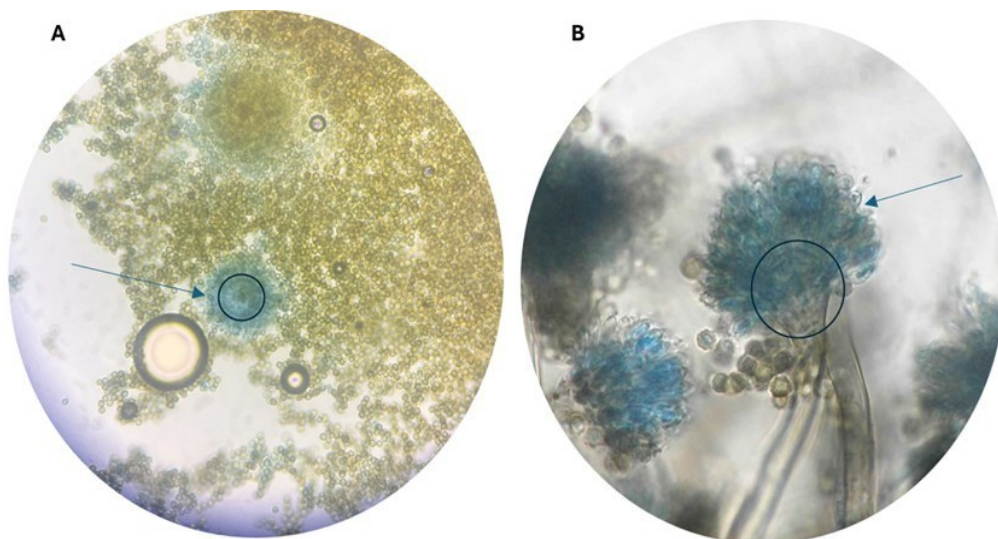


Figura 12 – Em (A) está o fungo *Aspergillus sp.*, retirado da placa X2B – NE1 – T6. Em (B), também, encontra-se o mesmo género, sendo que esta fotografia foi retirada e adaptada da literatura Atlas de Micologia (CHUC, 2024). Ambas as setas azuis apontam para os conídios e ambos os círculos em preto destacam as vesículas.

O género *Neoscytalidium sp.*, foi encontrado na placa X1O – NE3 – T9, e está representado na figura 13, sendo possível verificar em ambas as imagens, as hifas cenocíticas e ligeiramente arredondadas.

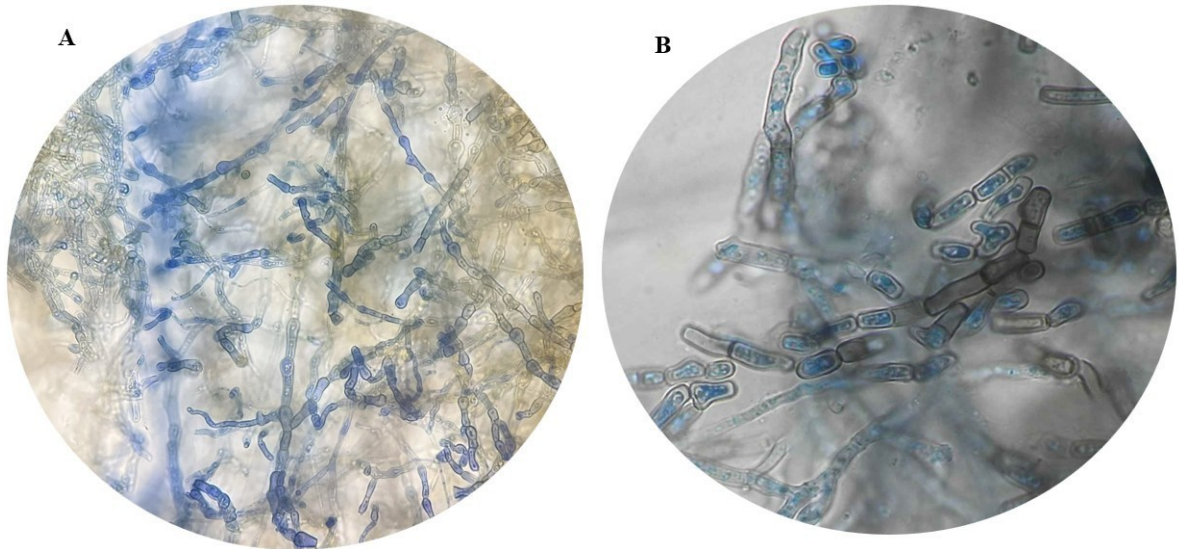


Figura 13 – Em (A) esta fotografado o género *Neoscytalidium sp.*, retirado da placa X1O – NE3 – T9. Em (B), esta fotografado o mesmo género, sendo que a fotografia foi retirada e adaptada da literatura Atlas da Micologia (CHUC, 2024). Em ambas as imagens, é possível identificar as hifas cenocíticas e algumas delas são ligeiramente arredondadas.

A figura 14 apresenta o bolor do género *Sporothrix sp.*, tanto em A (placa X1O – NE4 – T4), tanto em B. As setas em azul estão a apontar para as hifas muito finas deste fungo e os círculos a vermelho, destacam os conídios.

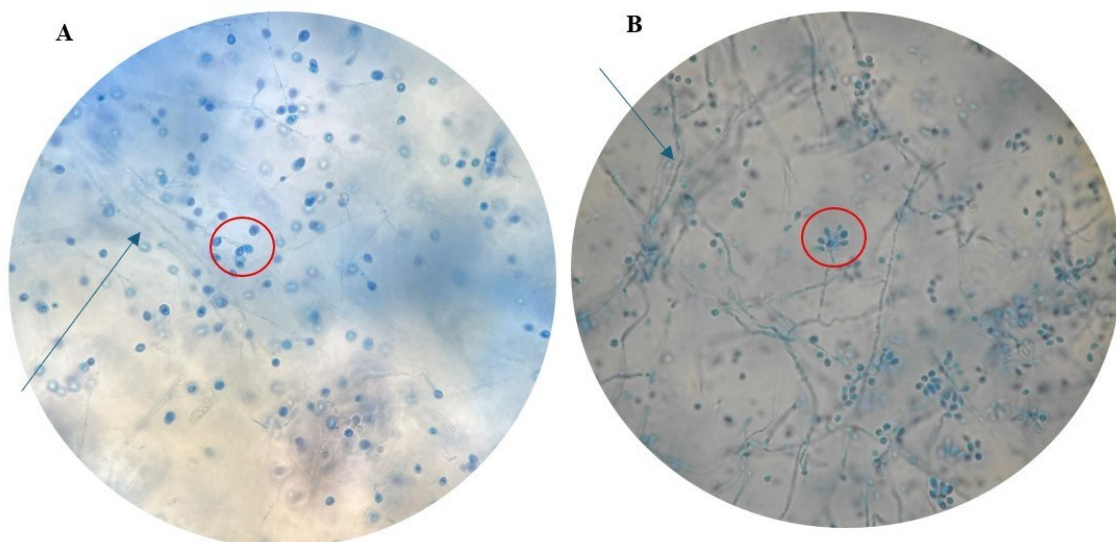


Figura 14 – Em (A) a fotografia mostra o género *Sporothrix sp.*, retirado da placa X1O – NE4 – T9. Em \*B) outra fotografia mostra o mesmo género, retirada e adaptada da literatura Atlas da Micologia (CHUC, 2024). Ambas as setas em azul apontam para as hifas muito finas e os círculos em vermelho destacam os conídios.

### 2.5.2 Identificação dos Fungos Leveduriformes

As leveduras isoladas no meio CCA foram identificadas de acordo com a coloração apresentada neste meio cromogénico, sendo que as colónias azuis são indicativas de *Candida albicans* (Figura 16), as colónias rosas (Figura 17) podem corresponder a três espécies diferentes (*Candida tropicalis*, *Candida lusitanae* e *Candida kefir*), e, as colónias brancas (Figura 18) só podem ser identificadas através de testes bioquímicos e/ou imunológicos.

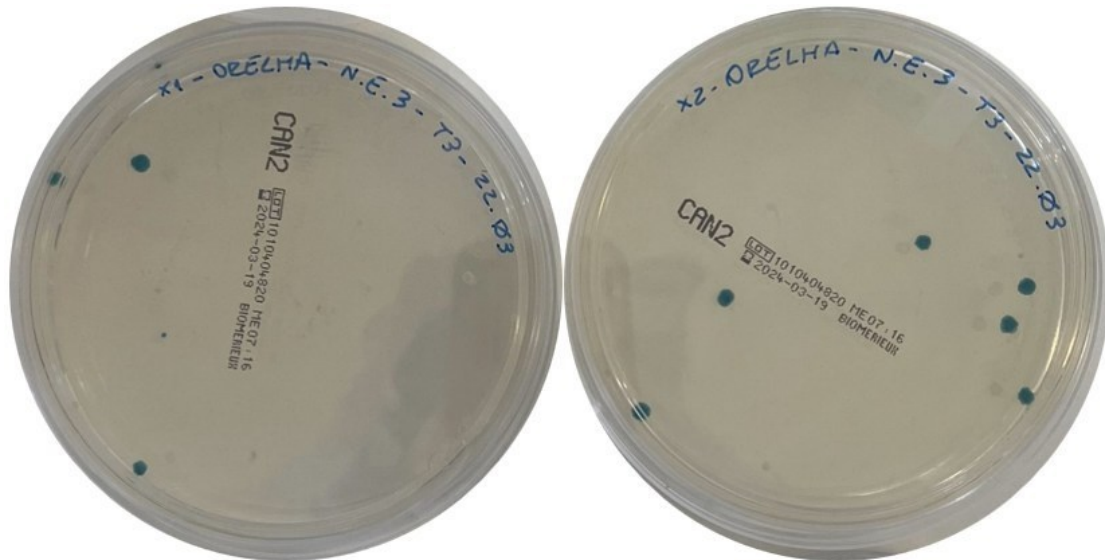


Figura 15 – Colónias de *Candida albicans* retiradas da placa X1 e X2, dos replicados efetuados nas orelhas do porco NE3, no tempo 3.



Figura 16 – Colónias circuladas em vermelho indicam as possíveis espécies *Candida tropicalis*, *Candida lusitanae* e *Candida kefir* encontradas na placa X1B – NE2 – T2.

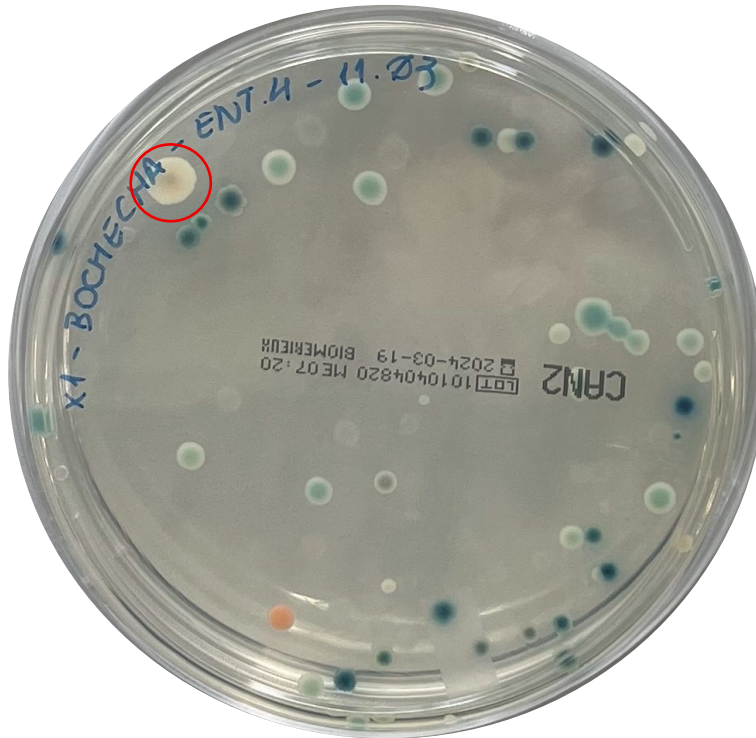


Figura 17 – Fotografia retirada da placa X1B – E4 – T0, na qual o círculo a vermelho destaca uma colônia branca do género *Candida sp.*

## 2.6 Tratamento dos Resultados

Os dados obtidos foram analisados com recurso ao software Microsoft Excel (Microsoft 365 para Windows versões atualizadas automaticamente; Microsoft Corporation, Redmond, WA, EUA).

Através desta ferramenta foi criada a tabela 2, contendo a Quantidade de colónias contadas para cada género dos fungos encontrados nas placas, sendo que no T0 (controlo), não cresceu nenhum tipo de bolor. De seguida, a Quantidade, foi utilizada para calcular o número de Unidades Formadoras de Colónias por zaragatoas (UFC/pz), indicado pela fórmula 1. Para isso foi necessário multiplicar por 10, valor que corresponde a conversão dos 100  $\mu$ L que foram retirados de cada tubo, para mL. O mesmo para os outros tempos (0 a 9), duplicados (X1N a X2B) e porcos (NE e E). Estes resultados encontram-se nos Anexos 1 a 6.

Tabela 2 – A tabela (A) indica a amostra, o género, a quantidade, os UFC/pz e os replicados X1N a X2B para o porco E1n no T1. A tabela (B) indica a amostra, o género, a quantidade, UFC/pz e os replicados de X1N, uma vez que os replicados X2N a X2B não apresentaram crescimentos.

A

| AMOSTRA 1 - TEMPO 1 (+3 DIAS) |       |                       |            |        |
|-------------------------------|-------|-----------------------|------------|--------|
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO                | QUANTIDADE | UFC/pz |
| E1                            | X1N   | <i>Cunninghamella</i> | 2          | 60     |
|                               |       | <i>Scedosporium</i>   | 1          | 30     |
|                               | X2N   | <i>Beauveria</i>      | 3          | 90     |
|                               |       | <i>Aspergillus</i>    | 2          | 60     |
|                               |       | <i>Fusarium</i>       | 3          | 90     |
|                               | X1O   | <i>Aspergillus</i>    | 4          | 120    |
|                               |       | <i>Microsporum</i>    | 1          | 30     |
|                               |       | <i>Penicillium</i>    | 2          | 60     |
|                               | X2O   | <i>Microsporum</i>    | 4          | 120    |
|                               |       | <i>Aspergillus</i>    | 2          | 60     |
|                               |       | <i>Mucor</i>          | 1          | 30     |
|                               | X1B   | <i>Mucor</i>          | 3          | 90     |
|                               |       | <i>Epidermophyton</i> | 3          | 90     |
|                               |       | <i>Fusarium</i>       | 2          | 60     |

B

| AMOSTRA 1 - TEMPO 1 (+3 DIAS) |       |                  |            |        |
|-------------------------------|-------|------------------|------------|--------|
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO           | QUANTIDADE | UFC/pz |
| NE1                           | X1N   | <i>Beauveria</i> | 1          | 30     |

$$UFC_{pz} = quantidade * 3 * 10$$

Fórmula 1 – Fórmula utilizada para calcular as UFC/pz. Nesta fórmula, a quantidade trata-se do número de colónias contadas em cada placa. O número 3, corresponde aos 3 mL de APTE que estava nos tubos *Falcon* por outro lado, o número 10 equivale ao valor de conversão dos 100 µL que foram retirados dos mesmos tubos para as placas de Petri.

De modo a continuar a análise, foi criada a tabela 3 contendo a média dos UFC/pz e o desvio padrão (STD) de cada replicado (X1N a X2B), para que assim fosse possível calcular a média total de cada tempo (em dias) para cada espécie de fungo isolada. Por exemplo, a tabela 3 apresenta o fungo do género *Fusarium sp.*, na qual a média total, é o resultado da média dos UFC/pz para cada tempo (em dias), referente aos seus replicados, sendo assim, no T3 (10 dias) a média total de UFC/pz foi de 505. Este mesmo procedimento foi realizado para as amostras NE nos tempos 0 a 9 (Tabela 4). Os restantes resultados estão nos anexos 7 e 8.

Tabela 3 – Separação das UFC/pz para o fungo *Fusarium sp.*, contendo a média de cada replicado (nariz, orelhas e bochechas), para cada um dos tempos (0 a 5), média total e o STD e dos porcos E1 a E5.

| Fusarium sp             |       |     |                           |       |     |                              |       |      |                          |             |
|-------------------------|-------|-----|---------------------------|-------|-----|------------------------------|-------|------|--------------------------|-------------|
| Replicados do Nariz (E) |       |     | Replicado das Orelhas (E) |       |     | Replicados das Bochechas (E) |       |      | Total dos Replicados (E) |             |
| TEMPO (em dias)         | MÉDIA | STD | TEMPO (em dias)           | MÉDIA | STD | TEMPO (em dias)              | MÉDIA | STD  | TEMPO (em dias)          | MÉDIA TOTAL |
| 3                       | 45    | 63  | 17                        | 75    | 63  | 3                            | 30    | 42   | 3                        | 25          |
|                         |       |     |                           |       |     | 7                            | 1425  | 148  | 7                        | 475         |
| 14                      | 15    | 21  |                           |       |     | 10                           | 1515  | 1972 | 10                       | 505         |
| 17                      | 570   | 381 |                           |       |     | 14                           | 675   | 572  | 14                       | 230         |
|                         |       |     |                           |       |     | 17                           | 1350  | 551  | 17                       | 665         |

Tabela 4 – Separação das UFC/pz para o fungo *Fusarium sp.*, contendo a média de cada replicado (nariz, orelhas e bochechas), para cada um dos tempos (0 a 9), média total e o STD e dos porcos NE1 a NE5.

| Fusarium sp              |       |     |                            |       |     |                               |       |     |                           |             |
|--------------------------|-------|-----|----------------------------|-------|-----|-------------------------------|-------|-----|---------------------------|-------------|
| Replicados do Nariz (NE) |       |     | Replicado das Orelhas (NE) |       |     | Replicados das Bochechas (NE) |       |     | Total dos Replicados (NE) |             |
| TEMPO (em dias)          | MÉDIA | STD | TEMPO (em dias)            | MÉDIA | STD | TEMPO (em dias)               | MÉDIA | STD | TEMPO (em dias)           | MÉDIA TOTAL |
| Não Isolado              |       |     | 0                          | 6     | 18  | 17                            | 3     | 9   | 0                         | 2           |
|                          |       |     | 21                         | 9     | 28  |                               |       |     | 17                        | 1           |
|                          |       |     | 24                         | 6     | 18  |                               |       |     | 21                        | 3           |
|                          |       |     |                            |       |     |                               |       |     | 24                        | 2           |

As espécies de *Candida sp.*, foram separadas e quantificadas em *C. albicans*, correspondendo às colónias de coloração azulada e *Candida sp.*, para as restantes colónias, uma vez que não foi possível identificar as espécies. De seguida, o T0 foi utilizado como controlo, para assim, haver uma comparação entre os resultados antes, durante e depois da experiência.

Após a contagem das colónias, foi criada a tabela 5, contendo a quantidade de cada colónia, por exemplo, para *C. albicans* foram contadas 158 colónias e para *Candida sp.*, foram contadas 36 colónias na placa X1N e o mesmo foi feito para os outros tempos (0 a 9), duplicados (X1N a X2B) e porcos (NE1 a NE5 e E1 a E5). Os restantes resultados estão disponíveis nos Anexos 9 a 17.

Tabela 5 – A Tabela (A) indica a quantidade, UFC/pz e o total de colónias das placas X1N a X2N, no T0, no porco E1. Na Tabela (B), apresenta a quantidade, UFC/pz e o total das placas X1N e X2N, no T0, no porco NE1.

| A                             |       |                    |            |        |       |
|-------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| CONTROLO 1 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       |
| Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| E1                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 158        | 4740   | 5820  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 36         | 1080   |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 99         | 2970   | 3600  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 21         | 630    |       |

| B                             |       |                    |            |        |       |
|-------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| CONTROLO 1 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       |
| Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 16         | 480    | 570   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90     |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 17         | 510    | 510   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |

De modo a continuar a análise, foi criada a tabela 6, que contém a média dos UFC/pz e o STD de cada replicado (nariz, orelhas e bochechas), para que assim fosse possível calcular a média total de cada tempo (em dias). A média total, é o resultado da média dos UFC/pz para os tempos, dos seus replicados, ou seja, no T0 (0 dias), a média total de todos os replicados para *C. albicans* foi de 681 e para os replicados de *Candida sp.*, foi de 244. O mesmo procedimento foi realizado, também, para os porcos NE nos tempos 0 a 9 (Tabela 7).

Tabela 6 – Separação das UFC/pz entre *Candida albicans* e *Candida sp.*, contendo a média total e o STD dos tempos 0 a 5 (em dias), das amostras dos porcos **E1 a E5**.

| <i>Candida albicans</i> |       |      |                           |       |     |                              |       |      |                          |             |
|-------------------------|-------|------|---------------------------|-------|-----|------------------------------|-------|------|--------------------------|-------------|
| Replicados do Nariz (E) |       |      | Replicado das Orelhas (E) |       |     | Replicados das Bochechas (E) |       |      | Total dos Replicados (E) |             |
| TEMPO (em dias)         | MÉDIA | STD  | TEMPO (em dias)           | MÉDIA | STD | TEMPO (em dias)              | MÉDIA | STD  | TEMPO (em dias)          | MÉDIA TOTAL |
| 0                       | 1260  | 1577 | 0                         | 240   | 393 | 0                            | 543   | 375  | 0                        | 681         |
| 3                       | 7470  | 2078 | 3                         | 195   | 148 | 3                            | 2145  | 657  | 3                        | 3270        |
| 7                       | 315   | 63   | 7                         | 240   | 0   | 7                            | 12360 | 1612 | 7                        | 4305        |
| 10                      | 30    | 0    | 10                        | 0     | 0   | 10                           | 4425  | 403  | 10                       | 1485        |
| 14                      | 45    | 21   | 14                        | 210   | 169 | 14                           | 15    | 21   | 14                       | 90          |
| 17                      | 315   | 148  | 17                        | 75    | 21  | 17                           | 0     | 0    | 17                       | 130         |

| <i>Candida sp.</i>      |       |      |                           |       |      |                              |       |      |                          |             |
|-------------------------|-------|------|---------------------------|-------|------|------------------------------|-------|------|--------------------------|-------------|
| Replicados do Nariz (E) |       |      | Replicado das Orelhas (E) |       |      | Replicados das Bochechas (E) |       |      | Total dos Replicados (E) |             |
| TEMPO (em dias)         | MÉDIA | STD  | TEMPO (em dias)           | MÉDIA | STD  | TEMPO (em dias)              | MÉDIA | STD  | TEMPO (em dias)          | MÉDIA TOTAL |
| 0                       | 438   | 390  | 0                         | 60    | 70   | 0                            | 234   | 220  | 0                        | 244         |
| 3                       | 3450  | 0    | 3                         | 225   | 21   | 3                            | 1410  | 169  | 3                        | 1695        |
| 7                       | 90    | 0    | 7                         | 870   | 1018 | 7                            | 2040  | 1145 | 7                        | 1000        |
| 10                      | 435   | 63   | 10                        | 1470  | 890  | 10                           | 8400  | 4921 | 10                       | 3435        |
| 14                      | 285   | 360  | 14                        | 228   | 2715 | 14                           | 105   | 106  | 14                       | 206         |
| 17                      | 15285 | 7148 | 17                        | 1680  | 466  | 17                           | 285   | 403  | 17                       | 5750        |

Tabela 7 – Separação das UFC/pz entre *Candida albicans* e *Candida sp.*, contendo a média total e o STD dos tempos 0 a 9 (em dias), das amostras dos porcos **NE1 a NE5**.

| <i>Candida albicans</i>  |       |      |                            |       |      |                               |       |      |                           |             |
|--------------------------|-------|------|----------------------------|-------|------|-------------------------------|-------|------|---------------------------|-------------|
| Replicados do Nariz (NE) |       |      | Replicado das Orelhas (NE) |       |      | Replicados das Bochechas (NE) |       |      | Total dos Replicados (NE) |             |
| TEMPO (em dias)          | MÉDIA | STD  | TEMPO (em dias)            | MÉDIA | STD  | TEMPO (em dias)               | MÉDIA | STD  | TEMPO (em dias)           | MÉDIA TOTAL |
| 0                        | 1473  | 1577 | 0                          | 229   | 234  | 0                             | 648   | 736  | 0                         | 783         |
| 3                        | 15    | 38   | 3                          | 27    | 57   | 3                             | 0     | 0    | 3                         | 14          |
| 7                        | 3     | 9    | 7                          | 9     | 28   | 7                             | 3     | 9    | 7                         | 5           |
| 10                       | 0     | 0    | 10                         | 39    | 74   | 10                            | 0     | 0    | 10                        | 13          |
| 14                       | 0     | 0    | 14                         | 48    | 109  | 14                            | 0     | 0    | 14                        | 16          |
| 17                       | 0     | 0    | 17                         | 102   | 232  | 17                            | 51    | 109  | 17                        | 51          |
| 21                       | 21    | 66   | 21                         | 1173  | 1770 | 21                            | 1416  | 3006 | 21                        | 870         |
| 24                       | 0     | 0    | 24                         | 0     | 0    | 24                            | 0     | 0    | 24                        | 0           |
| 28                       | 0     | 0    | 28                         | 21    | 40   | 28                            | 117   | 268  | 28                        | 46          |
| 30                       | 3     | 9    | 30                         | 15    | 32   | 30                            | 24    | 39   | 30                        | 14          |

| <i>Candida sp.</i>       |       |     |                            |       |       |                               |       |      |                           |             |
|--------------------------|-------|-----|----------------------------|-------|-------|-------------------------------|-------|------|---------------------------|-------------|
| Replicados do Nariz (NE) |       |     | Replicado das Orelhas (NE) |       |       | Replicados das Bochechas (NE) |       |      | Total dos Replicados (NE) |             |
| TEMPO (em dias)          | MÉDIA | STD | TEMPO (em dias)            | MÉDIA | STD   | TEMPO (em dias)               | MÉDIA | STD  | TEMPO (em dias)           | MÉDIA TOTAL |
| 0                        | 435   | 449 | 0                          | 39    | 51    | 0                             | 222   | 255  | 0                         | 232         |
| 3                        | 315   | 665 | 3                          | 0     | 0     | 3                             | 21    | 49   | 3                         | 112         |
| 7                        | 0     | 0   | 7                          | 0     | 0     | 7                             | 18    | 47   | 7                         | 6           |
| 10                       | 3     | 9   | 10                         | 60    | 133   | 10                            | 0     | 0    | 10                        | 21          |
| 14                       | 0     | 0   | 14                         | 225   | 432   | 14                            | 9     | 28   | 14                        | 78          |
| 17                       | 9     | 14  | 17                         | 11352 | 15119 | 17                            | 228   | 447  | 17                        | 3863        |
| 21                       | 135   | 231 | 21                         | 2511  | 2083  | 21                            | 2085  | 2722 | 21                        | 1577        |
| 24                       | 57    | 159 | 24                         | 345   | 476   | 24                            | 255   | 593  | 24                        | 219         |
| 28                       | 18    | 40  | 28                         | 12414 | 16179 | 28                            | 162   | 194  | 28                        | 4198        |
| 30                       | 3     | 9   | 30                         | 6126  | 11777 | 30                            | 87    | 107  | 30                        | 2072        |

As tabelas foram elaboradas para posterior criação de gráficos para melhor visualização dos resultados obtidos.



## CAPÍTULO III – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Fungos Filamentosos

#### 3.1.1 Porcos Enterrados

Durante os primeiros 17 dias da experiência, foram obtidas 30 amostras de controle (T0) das cabeças de porco NE e mais 30 amostras dos porcos E durante os tempos 1 a 5. Durante os tempos 1 a 5 (dias 15/03/2024 a 29/03/2024), 16 gêneros de fungos foram isolados e identificados, como apresentam as tabelas 8 e 9, entre eles estão *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Acrophialophora sp.*, *Apophysomyces sp.* e *Aureobasidion sp.* Essa grande diversidade fúngica pode derivar tanto da microbiota dos porcos, como da microbiota do solo onde estavam as amostras (Caenazzo & Tozzo, 2021).

Tabela 8 – Gêneros de bolores que foram isolados nos porcos na recolha de controle, ou seja, em T0. A tabela contém o tempo em dias, as amostras, os gêneros e as UFC/pz.

| TEMPO (em dias) | AMOSTRA | GÉNERO                 | UFC/pz |
|-----------------|---------|------------------------|--------|
| T0 (0 dias)     | E2      | <i>Cladosporium</i>    | 30     |
|                 | NE2     | <i>Fusarium</i>        | 60     |
|                 |         | <i>Penicillium</i>     | 60     |
|                 | NE3     | <i>Acrophialophora</i> | 300    |
|                 |         | <i>Apophysomyces</i>   | 30     |
|                 | NE5     | <i>Aureobasidion</i>   | 30     |

Tabela 9 – Gêneros de bolores que foram isolados nas amostras enterradas, ou seja, de T0 a T5. A tabela, também, contém a amostra e as UFC/pz.

| TEMPO (em dias)       | AMOSTRA | GÊNERO                  | UFC/pz |
|-----------------------|---------|-------------------------|--------|
| T1 (3 dias)           | E1      | <i>Cunninghemella</i>   | 60     |
|                       |         | <i>Scedosporium</i>     | 30     |
|                       |         | <i>Beauveria</i>        | 90     |
|                       |         | <i>Aspergillus</i>      | 240    |
|                       |         | <i>Fusarium</i>         | 150    |
|                       |         | <i>Microsporum</i>      | 150    |
|                       |         | <i>Penicillium</i>      | 60     |
|                       |         | <i>Mucor</i>            | 120    |
| T2 (7 dias)           | E2      | <i>Epidermophyton</i>   | 90     |
|                       |         | <i>Heterobasidion</i>   | 60     |
|                       |         | <i>Pseudallescheria</i> | 1050   |
|                       |         | <i>Scedosporium</i>     | 30     |
|                       |         | <i>Neoscytalidium</i>   | 120    |
|                       |         | <i>Mucor</i>            | 60     |
|                       |         | <i>Fusarium</i>         | 2850   |
|                       |         | Não Identificado        | 30     |
|                       |         | T3 (10 dias)            | E3     |
| <i>Aspergillus</i>    | 30      |                         |        |
| <i>Fusarium</i>       | 3030    |                         |        |
| <i>Trichophyton</i>   | 3270    |                         |        |
| <i>Epidermophyton</i> | 2340    |                         |        |
| T4 (14 dias)          | E4      | <i>Scedosporium</i>     | 150    |
|                       |         | <i>Fusarium</i>         | 1380   |
|                       |         | <i>Scedosporium</i>     | 240    |
|                       |         | <i>Sakesenaea</i>       | 30     |
| T5 (17 dias)          | E5      | <i>Epidermophyton</i>   | 5970   |
|                       |         | <i>Fusarium</i>         | 3990   |
|                       |         | <i>Cunninghemella</i>   | 30     |
|                       |         | <i>Scedosporium</i>     | 600    |
|                       |         | <i>Alternaria</i>       | 30     |
|                       |         | Não Identificado        | 30     |

O gráfico 1, apresenta uma enorme diversidade de gêneros de bolores nos porcos E, que não estavam presentes no T0. Esse aumento de microrganismos, faz sentido, pois de acordo com Szelezcz e colaboradores (2014) e Zhao e colaboradores (2022), a própria decomposição das carcaças e as reações químicas que ocorrem fazem com que haja alterações no solo em que se encontram, ou seja, interfere na biomassa microbiana do solo. Os gêneros encontrados nessa fase, estão em consonância com os citados pela literatura, como mais comuns no solo. Por exemplo, Gemmellaro e colaboradores (2023) e Ferreira e colaboradores (1998), citam que os gêneros mais comuns são *Penicillium sp.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.*, *Fusarium sp.*, *Cladosporium sp.*, *Aspergillus sp.* e *Trichoderma*

*sp.*, e, como demonstra a tabela 9, entre os diversos géneros encontrados nesta experiência, estão *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Cladosporium sp.* e *Mucor sp.*

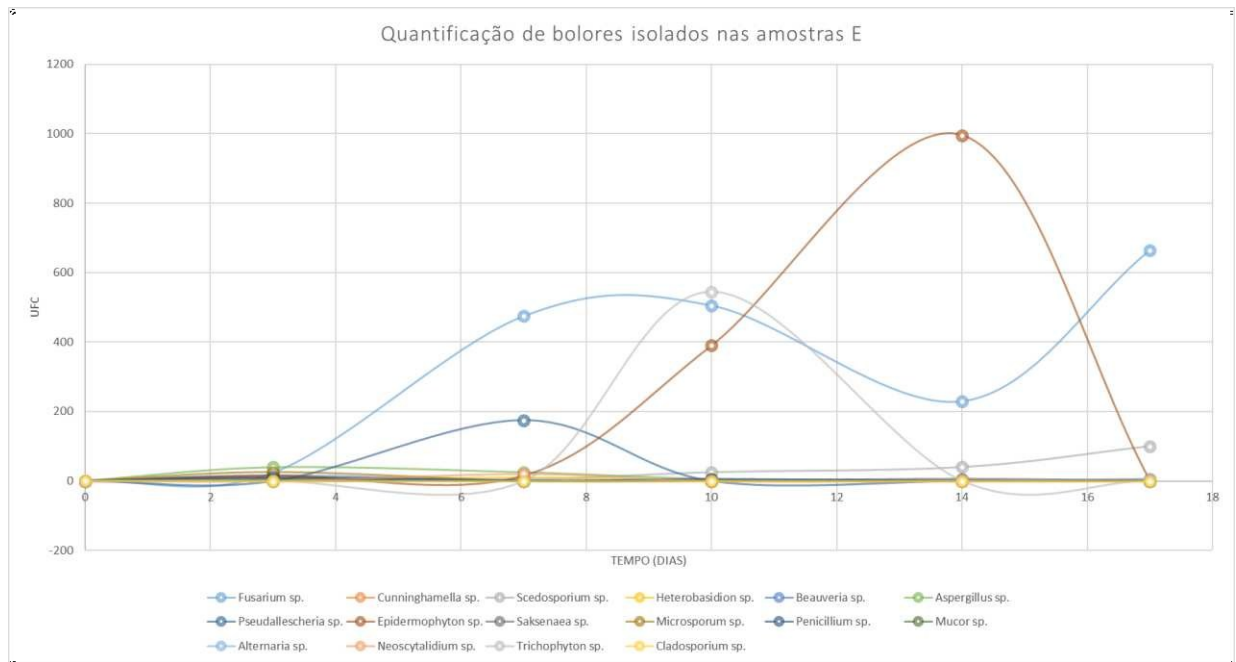


Gráfico 1 – Aumento do número de UFC/pz ao longo do tempo dos géneros inoculados nos tempos 0 a 5, nas amostras **E1 a E5**. O eixo X corresponde ao tempo (em dias) da experiência e o eixo Y corresponde às médias totais dos UFC/pz.

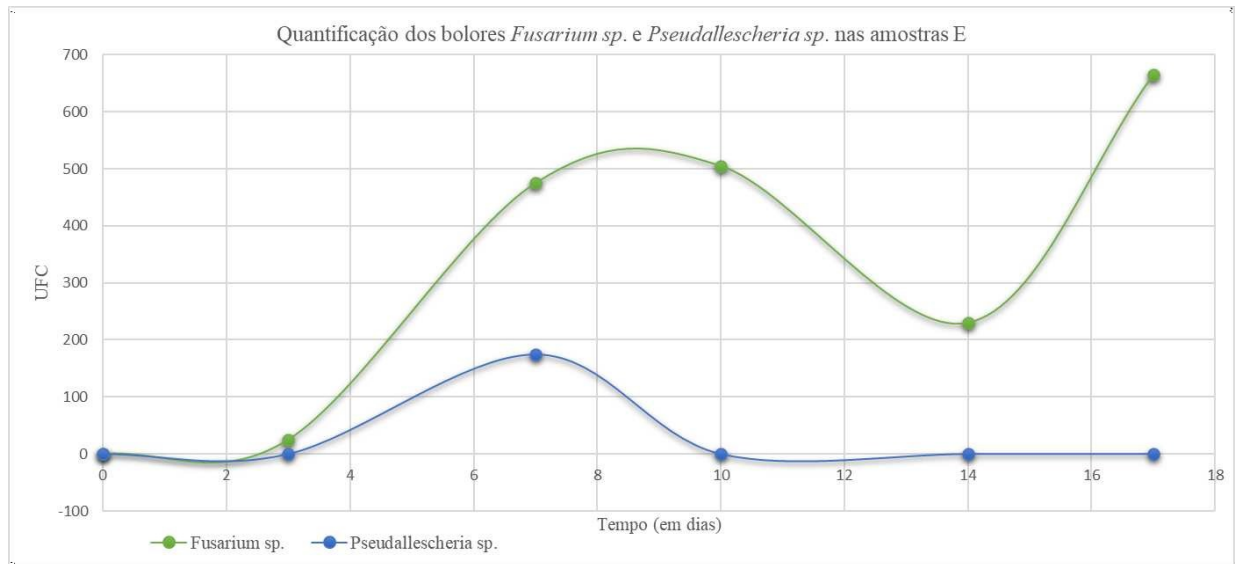


Gráfico 2 – O gráfico apresenta o isolamento dos géneros *Fusarium sp* (linha verde) e *Pseudallescheria sp* (linha azul) obtidos nas amostras **E1 a E5**, nos tempos 0 a 5. O eixo X representa o tempo (em dias) decorrido nessa experiência e o eixo Y representa as médias totais de UFC/pz.

Relativamente aos fungos do gráfico 2, o bolor *Pseudallescheria sp.*, na sua fase inicial (0 a 3 dias), o seu valor de UFC/pz se encontra nulo. A partir do dia 3 é possível ver um ligeiro aumento, que vai aumentando até o dia 7, chegando no seu pico, com valor de 175 UFC/pz. A partir dos dias 8 e 9 começa a diminuir e no décimo dia voltou a 0 UFC/pz, mantendo-se, assim, até o final da experiência.

Por outro lado, o género *Fusarium sp.*, no início (entre 0 e 3 dias) apresenta uma quantidade de UFC/pz quase nula, assim como o género anterior. Contudo, entre os dias 7 e 10 as médias de UFC/pz aumentam para 475 e 505 UFC/pz, respetivamente. A seguir por volta do 8º e 14º dia há uma elevada decadência na média de UFC/pz, chegando então a 230 UFC/pz, e, novamente, sobe para uma média de 665 UFC/pz.

A inoculação do fungo *Pseudallescheria sp.*, nesta experiência faz sentido, pois segundo Kaltseis e colaboradores (2009) e Travis e colaboradores (1985), esta espécie possui uma média de crescimento entre os 7 e 14 dias e prefere áreas que tenham sido “afetadas” pelo homem, como por exemplo, solos de jardinagem, esgotos, lagos poluídos, etc. Já a espécie *Fusarium sp.*, de acordo com Crous e colaboradores (2011), Ferreira e colaboradores (2020) e Perincherry e colaboradores (2019) essa espécie tem uma média de crescimento entre os 7 e 14 dias e por ser um dos géneros mais comuns do solo, consegue se adaptar a diferentes tipos de habitats, incluindo climas tropicais e áreas temperadas.

Contudo, a diferença dos níveis de crescimento entre ambas as espécies, pode estar relacionada com algumas possibilidades. A primeira possibilidade pode se tratar do facto do género *Fusarium sp.*, numa fase necrófila produz toxinas para melhor absorção de nutrientes, além disso, Perincherry e colaboradores (2019) também cita que estas toxinas são produzidas com intuito de enfraquecer outras espécies saprófitas que possam estar em competição com ela. Outra possibilidade pode ser de uma possível identificação errónea relativamente ao bolor *Pseudallescheria sp.*

Por fim, como já citado anteriormente, de acordo com Crous e colaboradores (2021) e Travis e colaboradores (1985) ambos os fungos tem uma média de crescimento entre os 7 e 14 dias, e, foram detetados nas amostras após uma semana de enterramento, o que pode corresponder a um marcador de tempo entre uma semana ou duas após a morte.

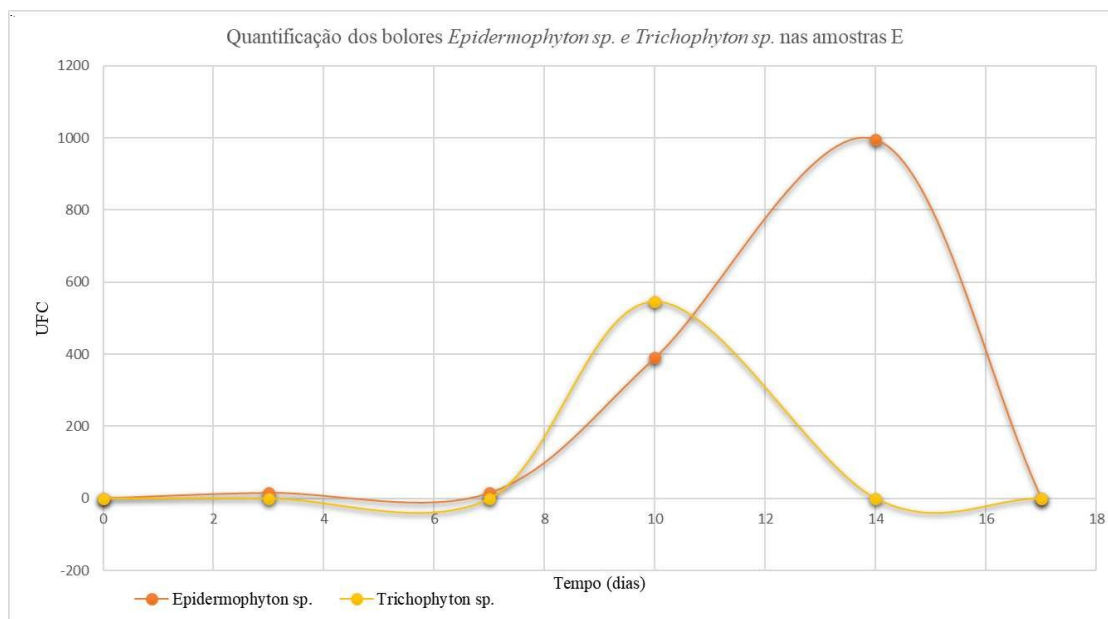


Gráfico 3 – O gráfico apresenta o isolamento dos gêneros *Epidermophyton sp.* (linha laranja) e *Trichophyton sp.* (linha amarela) obtidos nas amostras E1 a E5 nos tempos 0 a 5. O eixo X apresenta o tempo (em dias) decorridos nesta experiência e o eixo Y apresenta as médias totais de UFC/pz.

Nos primeiros 6 dias, não foram isolados fungos do género *Epidermophyton sp.*, e *Trichophyton sp.*, porém entre os dias 7 e 14, começa a verificar-se crescimento de ambos os fungos. O género *Trichophyton sp.*, atinge o seu pico máximo populacional de 545 UFC/pz no 10º dia e volta a diminuir até o 14º dia. Em contrapartida, o bolor *Epidermophyton sp.*, continua a crescer, no 10º dia chega a 390 UFC/pz, continuando a proliferar até o 14º dia (995 UFC/pz) e volta a diminuir até chegar a 0 UFC/pz no 18º dia.

Assim como os gêneros anteriores, a aparição destes bolores faz sentido, pois segundo Bernardi e colaboradores (2009), Lana e colaboradores (2016) e Moraes e colaboradores (2013), ambos os bolores (*Epidermophyton* e *Trichophyton*) são fungos dermatófitos. Algumas espécies de *Trichophyton sp.* têm preferência por alguns animais como por exemplo coelhos, cavalos, galinhas ou porcos (a amostra trata-se de suínos), além disso, parasitam locais do corpo como a pele, as unhas ou couro cabeludo (Lana et al, 2016). Acrescenta-se que algumas espécies de *Epidermophyton sp.*, preferem a queratina em tecidos mortos, podendo ser encontrados na natureza nos estágios finais de decomposição da pele, pelos, penas, cascos e carapaças (Bernardi et al., 2009; Lana et al., 2016).

Além disso, segundo consta em Larone (2011), há espécies de *Trichophyton sp.* que crescem entre 6 e 10 dias, sendo elas *T. mentagrophytes*, *T. terrestre*, *T. megninii* e *T. ajeloi*, podendo indicar que uma dessas espécies corresponde ao encontrado nas amostras (Gráfico 3). Em comparação, também em Larone (2011), a única espécie de *Epidermophyton sp.*, citada é a *E. floccosum*, a qual cresce em 10 dias, contudo, o anterior gráfico apresenta um pico de crescimento no 14º dia. Isto pode ser explicado de duas formas, a primeira delas pode ser um erro na identificação, uma vez que o fungo *Trichophyton rubrum* é microscopicamente parecida com o *E. floccosum*, que tem um pico de crescimento aos 14 dias. A segunda explicação pode ser que o fungo encontrado seja outra espécie de *Epidermophyton sp.*

Posto isto, pode ser possível utilizar o género *Trichophyton sp.* para datar a morte entre 6 e 10 dias e a espécie *E. floccosum* para datar a morte entre 10 e 14 dias.

### 3.1.2 Porcos Não Enterrados

Durante todo o tempo da experiência (1 mês), foram 240 amostras sendo que 30 foram as amostras controlo, T0 (NE1 a NE5), e, os restantes 210 foram as amostras nos T1 a T9 para as amostras (NE1 a NE5), como indica a tabela 1. Neste período, foram identificados 25 géneros de bolores, entre eles, os mencionados anteriormente e outros como por exemplo, *Aspergillus sp.*, *Alternaria sp.*, *Mucor sp.*, *Microsporum sp.*, entre outros géneros, como apresentado pelo gráfico 4.

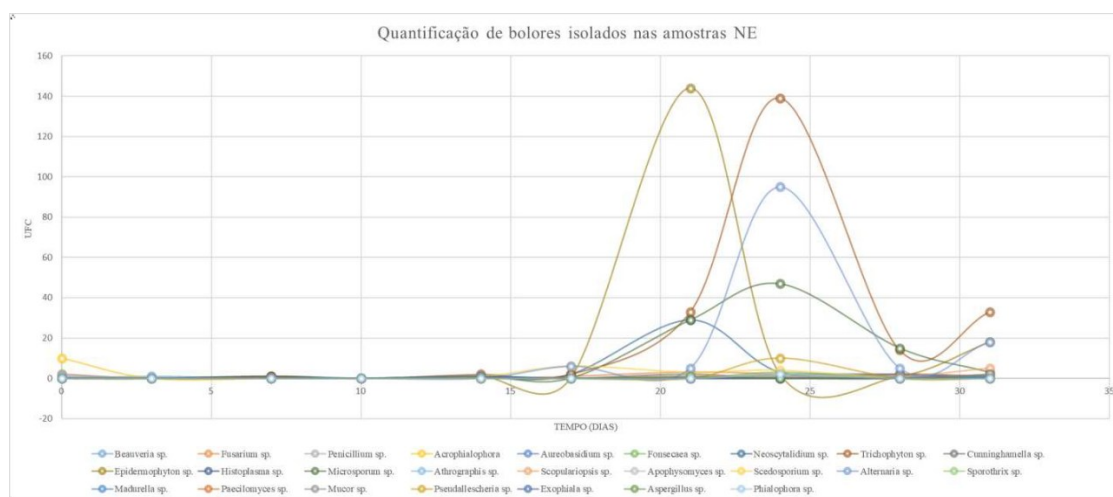


Gráfico 4 – Aumento do número de UFC/pz ao longo do tempo de todos os géneros encontrados em T0 a T9, nas amostras NE1 a NE5. O eixo X representa o tempo (em dias) da experiência e no eixo Y representa as médias totais de UFC/pz.

No gráfico 4, pode observar maior diversidade de géneros de bolores nos porcos NE, em comparação com os porcos E; essa diversidade tem fundamento, já que há uma maior propagação dos esporos dos fungos pelo vento e pela água. Os géneros encontrados nessa fase, estão de acordo com a literatura (Beckett et al., 2022; Hosukler et al., 2018; Schwarz et al., 2014).

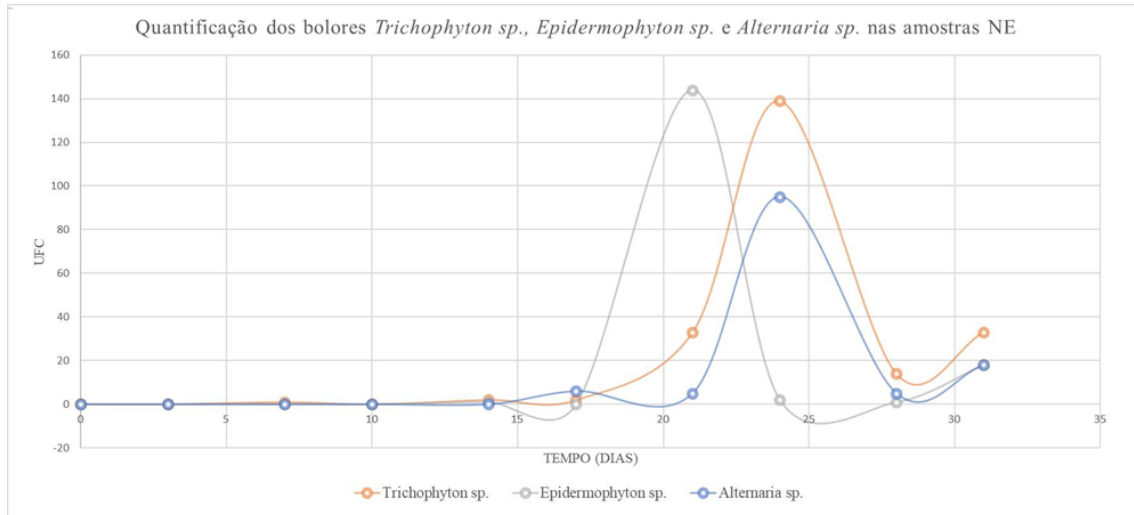


Gráfico 5 – O gráfico apresenta isolamento dos géneros *Trichophyton sp* (linha laranja), *Epidermophyton sp* (linha cinzenta) e *Alternaria sp* (linha azul), obtidos nas amostras NE1 a NE5, e nos tempos 0 a 9. O eixo X corresponde ao tempo (em dias) decorrido nesta experiência e o eixo Y corresponde às médias totais de UFC/pz.

Em relação ao género *Alternaria sp.*, é possível verificar que começa a aparecer nos isolamentos entre os dias 17 e 21, com médias de 6 e 5 UFC/pz respetivamente. Três dias depois (24º dia) atinge o seu máximo com uma média de 95 UFC/pz, voltando a diminuir, chegando a 5 UFC/pz no dia 28. Contudo, volta a aumentar a sua média nos últimos dias da experiência, chegando a 18 UFC/pz no 31º dia.

O género *Epidermophyton sp* nos primeiros 17 dias não apresenta crescimentos, todavia, apresenta o seu pico no dia 21 (144 UFC/pz), voltando a decair nos próximos dias e, assim como o fungo *Alternaria sp* volta a aumentar nos últimos dias da experiência, chegando a um valor de 18 UFC/pz no 31º dia.

Por fim, o bolor *Trichophyton sp* também, o seu crescimento entre os dias 17 a 21, com média iguais a 6 e 33 UFC/pz, respetivamente. Seguindo com o seu crescimento no dia 24, atinge o pico com média de 139 UFC/pz, voltando a diminuir até o dia 28 (14 UFC/pz), e, como os outros dois bolores anteriores, este volta a proliferar nos últimos dias da experiência chegando a 33 UFC/pz.

Como citado anteriormente, os bolores *Trichophyton sp.* e *Epidermophyton sp.* são fungos dermatófitos que têm preferências para tecidos queratinosos (podendo estar em fase de decomposição), além de poderem infectar animais como porcos, cavalos, galinhas, coelhos e seres humanos, por isso faz sentido que estes fungos se encontrem nesta experiência (Bernardi et al., 2009 e Lana et al., 2016).

A maioria das espécies de *Alternaria sp.*, segundo consta Thomma (2003) e Woudenberg e colaboradores (2013) são fungos saprófitas comum que são encontrados numa variedade de habitats como agentes de decomposição. Para além do exposto, Larone (2018) cita que algumas espécies de *Alternaria sp.* tem maturação a partir do dia 5, entretanto, não especifica quais são essas espécies. O autor também cita que as nomenclaturas das diferentes espécies deste fungo continuam a serem estudadas.

Segundo apresentado por Larone (2011) e Larone (2018), há duas espécies de *Trichophyton sp* que apresentam o crescimento entre os dias 14 e 21, sendo elas *T. verrucosum* e *T. violaceum*, o que pode indicar que uma (ou as duas) espécies foram encontradas nas amostras. Ainda de acordo com Larone (2011) e Larone (2018), a espécie *Epidermophyton floccosum*, cresce em 10 dias, só que neste caso, o gráfico apresenta um crescimento a partir do dia 17, podendo indicar que houve um erro no momento da identificação fúngica ou se tratar de uma outra espécie de *Epidermophyton sp.*

De acordo com a análise do gráfico 5, é possível dizer que o género *Alternaria sp.*, pode indicar a data da morte entre 17 e 24 dias. As espécies *T. verrucosum* e *T. violaceum*, podem indicar que a morte ocorreu entre os dias 17 e 24. No entanto, nesta análise do gráfico 5, em específico, não é possível afirmar se a espécie *E. floccosum* ou género *Epidermophyton sp* contribuem para a estimativa do IPM.

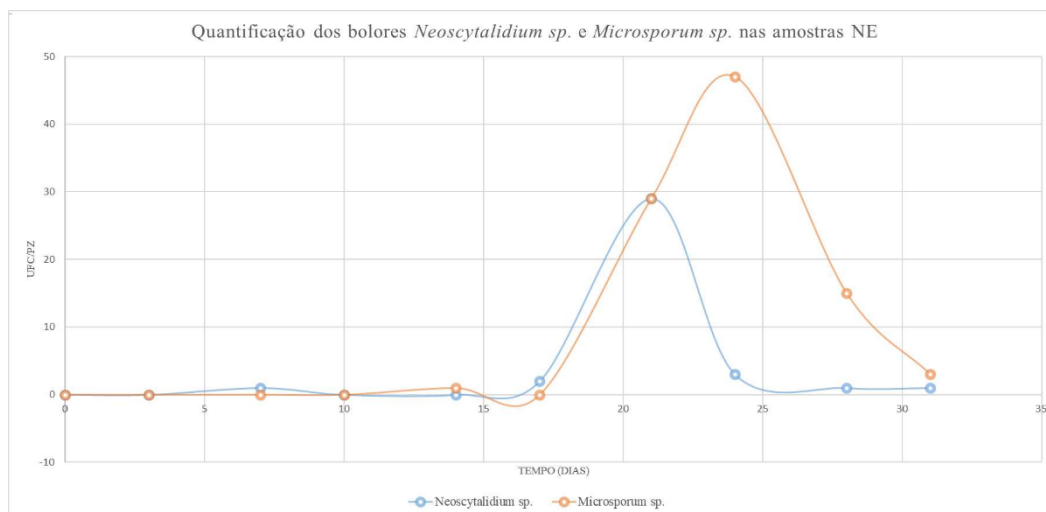


Gráfico 6 – O gráfico apresenta o isolamento dos géneros *Neoscytalidium sp* (linha azul) e *Microsporium sp* (linha laranja), obtidos nas amostras NE1 a NE5 e nos tempos 0 a 9. O eixo X representa o tempo (em dias) decorridos nessa experiência e o eixo Y é as médias totais de UFC/pz.

No gráfico 6, estão representados os crescimentos obtidos para os géneros *Neoscytalidium sp* e *Microsporium sp*, sendo que é possível perceber que esses géneros começam a ser isolados no dia 14. Apesar de começarem a aparecer no mesmo dia, têm picos de crescimentos em diferentes momentos, sendo que o valor das médias de UFC/pz para o género *Neoscytalidium sp* é inferior ao do *Microsporium sp*.

O género *Neoscytalidium sp* começa a apresentar número no dia 17, com média de 2 UFC/pz, aumentando progressivamente até o dia 21 com média de 29 UFC/pz, chegando ao seu pico máximo, e por fim decaindo no dia 24 com um valor de 3 UFC/pz.

Para o género *Microsporium sp*, no dia 17 ainda não apresenta isolamentos, começando a aparecer apenas no dia 21, com média de 29 UFC/pz e atinge seu pico do dia 24 com média de 47 UFC/pz, voltando a diminuir no dia 28, com média de 15 UFC/pz, até chegar no valor de média mais baixo (3 UFC/pz).

Antes de ser *Neoscytalidium sp* este fungo teve dois nomes, primeiro *Hendersonula toruloidea* e depois *Scytaalidium dimidiatum* (de Souza, 2020). De acordo com a literatura descrita em Cursi e colaboradores (2011) e Pontarelli e colaboradores (2005), este género é encontrado maioritariamente em países tropicais. Contudo, em Larone (2011) e outras literaturas, este fungo apresenta um crescimento rápido, apenas 3 dias, o que não corresponde com o que está apresentado nos resultados, isso pode ter a ver com o facto de que hifas deste fungo são muito parecidas com hifas de fungos

dermatófitos, causando confusão no momento do exame microscópico (Ilyas et al., 2013). Não foram encontradas referências que diziam que este género poderia ser saprófito.

O género *Microsporum sp.* possui uma grande variedade de espécies, sendo que crescem entre 4 e 10 dias, o que não é apresentado pelo gráfico, contudo, apenas o *M. ferrugineum* cresce entre 12 e 20 dias, o que pode indicar que o fungo encontrado nessa experiência seja esta espécie (Larone, 2011). De acordo com Ciesielska e colaboradores (2021), este género possui preferência para estruturas queratinosas, como por exemplo, pele, unhas e cabelo, além disso, algumas espécies deste bolor podem ser encontradas em solos contaminados e desenvolvem-se em alguns animais como cães, cavalos ou roedores (Stefano et al., 2022).

## **3.2 Fungos Leveduriformes**

### **3.2.1 Porcos Enterrados**

Durante os primeiros 17 dias da experiência, foram recolhidas 30 amostras controlo (T0) dos porcos E e outras 30 amostras (T1 a T5). Nestas amostras apenas leveduras do género *Candida sp.*, nomeadamente a espécie *Candida albicans* foram identificadas, uma vez que o meio de cultura CCA era seletivo para estas leveduras.

O gráfico 7 apresenta os microrganismos isolados apenas nos primeiros 17 dias. Este resultado é corroborado pelos estudos realizados por Sidrim e colaboradores (2009) e Hosukler e colaboradores (2018), ambos os estudos relatam que o crescimento desta espécie pode ser derivado do rompimento das barreiras da pele e maior contato com as secreções mucosas. Entretanto, apesar do meio ser seletivo para *Candida sp.*, o crescimento muito diversificado da espécie *Candida sp.* não pode fornecer um resultado fidedigno, já que não foi possível realizar outros testes bioquímicos, e, ou, imunológicos para a identificação das outras espécies encontradas nos replicados.

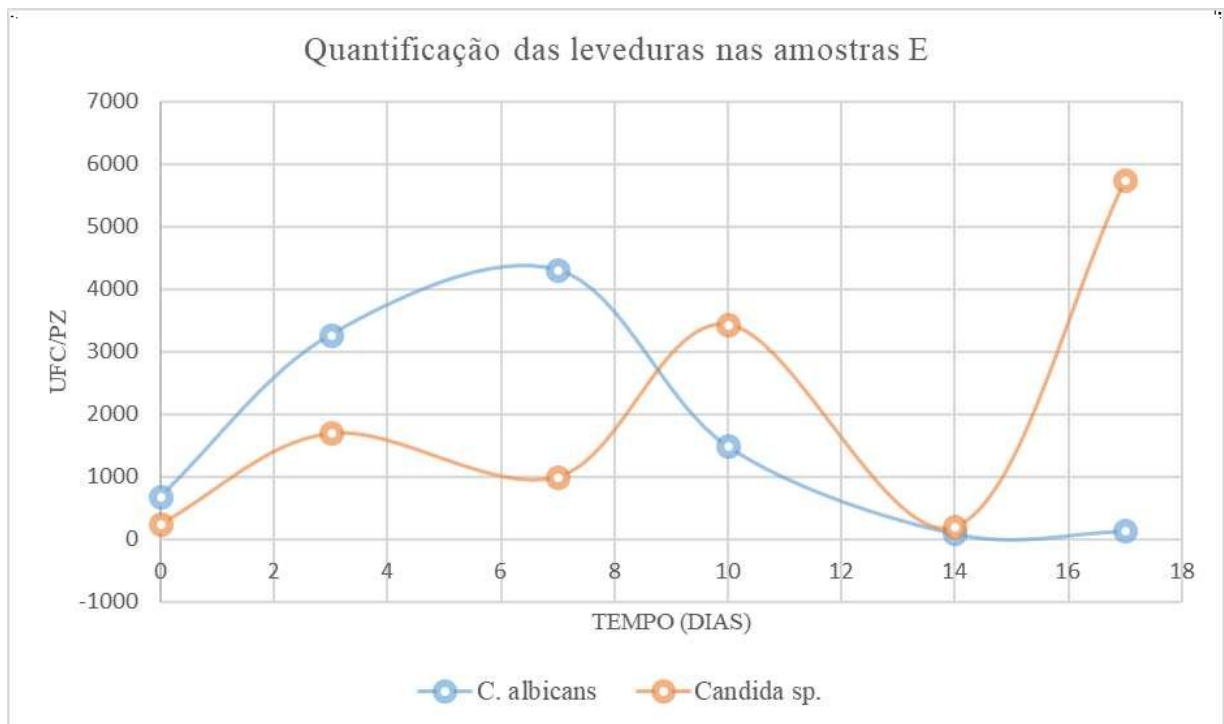


Gráfico 7 – Crescimento da espécie *C. albicans* (linha azul) e do género *Candida sp.* (linha laranja), que foram obtidas pelas amostras dos tempos 0 a 5, das amostras **E1 a E5**. O eixo X apresenta o tempo (em dias) e o eixo Y apresenta as médias totais dos UFC/pz.

De acordo com Larone (2018), o crescimento de levedura *Candida albicans* é rápido, crescendo aos 3 dias, o que não corresponde ao apresentado no gráfico, pois desde o dia 0, já apresentava colónias. Este aparecimento pode ser devido a uma contaminação das amostras ou pelo facto do género *Candida sp.* ser um comensal comum da microbiota animal e humana (de Brito et al., 2009).

### 3.2.2 Porcos Não Enterrados

O gráfico 8 apresenta o crescimento de *C. albicans* e de outras leveduras do género *Candida sp.* que não *C. albicans*. Pode verificar-se que o resultado não é semelhante ao obtido com os porcos enterrados.

O crescimento obtido para *C. albicans* não está de acordo com o descrito pela literatura (Giolo et al., 2010). Essa diferença pode estar relacionada com a exposição das amostras às condições climáticas.

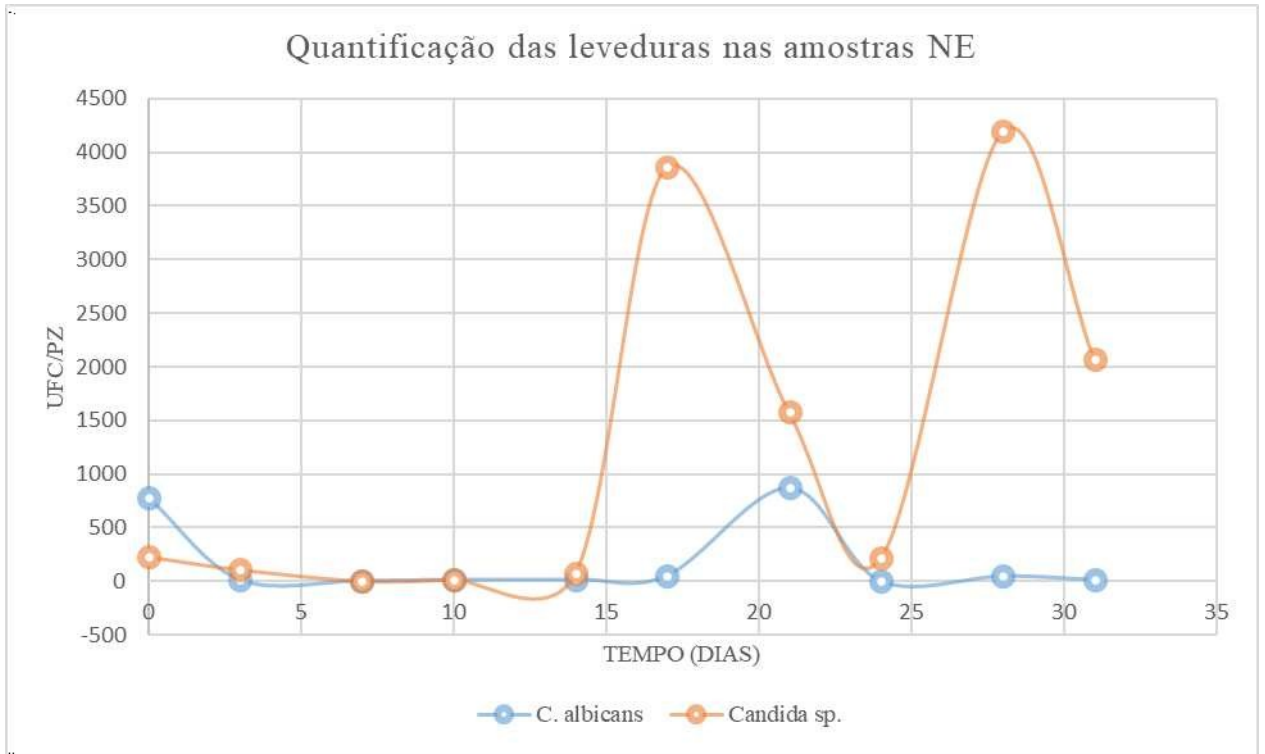


Gráfico 8 – Crescimento da espécie *C. albicans* (linha azul) e de leveduras do género *Candida sp.* que não *C. albicans* (linha laranja), que foram obtidas pelas amostras de T0 a T9, das amostras **NE1 a NE5**. O eixo X indica o tempo (em dias) e o eixo Y indica as médias totais dos UFC/pz.

## CAPÍTULO IV – CONCLUSÃO

O presente trabalho utilizou um modelo animal experimental, baseado em cabeças de porco, devido à semelhança anatômica e fisiológica com os seres humanos. Estas amostras foram submetidas às condições climáticas e divididas em dois grupos principais: corpos enterrados (amostras E) e não enterrados (amostras NE), para entender e explorar como os diferentes ambientes impactam no crescimento fúngico e identificar géneros predominantes associados a cada cenário.

A diversidade de fungos filamentosos e leveduriformes ao longo do processo de decomposição, apresentam diferenças de acordo com o modo em que foram dispostos (enterrados e não enterrados). Por exemplo, nos porcos enterrados, durante toda a experiência foram isolados uma elevada diversidade de fungos filamentosos, mas dentre eles os que se destacam mais são *Fusarium sp.*, *Pseudallescheria sp.*, *Epidermophyton sp.* e *Trichophyton sp.* De acordo com o apresentado na literatura e no que foi identificado nos resultados, estes géneros podem ser indicativos do IPM, de 7 e 14 dias (*Fusarium sp.* e *Pseudallescheria sp.*), 6 a 10 dias (*Trichophyton sp.*) e por fim, 10 e 14 dias (*Epidermophyton sp.*).

Por outro lado, nos porcos NE, verificou-se uma maior diversidade fúngica, provavelmente, devido à elevada exposição ao solo e seus microrganismos. Dentre os géneros isolados, aqueles que se destacam mais são *Trichophyton sp.*, *Epidermophyton sp.*, *Alternaria sp.*, *Neoscytalidium sp.* e *Microsporum sp.* No caso dos fungos encontrados nestas amostras, apenas os géneros *Trichophyton sp.*, *Alternaria sp.* e *Microsporum sp.* podem ser utilizados como fator para o cálculo do IPM, 14 e 21 dias e 12 a 20, respetivamente.

Em relação aos fungos leveduriformes, foram isoladas colónias de *Candida albicans* e de outras espécies do género *Candida sp.* Embora sejam encontradas tanto nas amostras E, tanto nas amostras NE, não é possível estabelecer uma relevância na estimativa do IPM.

De modo geral, os resultados obtidos estão em consonância com o que foi pesquisado nas diferentes literaturas, evidenciando uma relação entre a condição do experimento e o crescimento fúngico. Verificou-se, em particular, o aparecimento de determinados gêneros nas amostras NE que não foram isoladas nas amostras E. A ocorrência de gêneros específicos em diferentes fases do processo de decomposição sugere que estes possam, futuramente, serem explorados como potenciais marcadores temporais.

Apesar de tudo, o estudo ainda precisa de algumas revisões no que toca à identificação fúngica, pois essa foi feita através de microscopia e análises das características morfológicas, seriam necessários outros tipos de testes como PCR, sequenciação de DNA, entres outros já citados anteriormente. Outros factores para serem levados em consideração relativamente a este tipo de estudo, seriam a análise mais minuciosa das condições climáticas (estações do ano, temperaturas, humidade...), comparação entre a microbiota solo pré e pós experiência para que assim seja possível a validação dos fungos como indicadores do intervalo *post-mortem*.

## CAPÍTULO V – REFERÊNCIAS

- Abreu, J., Rovida, A. & Pamphile, J. (2015). Fungos de Interesse: Aplicações Biotecnológicas. *UNINGÁ*, 21, 55 – 59. <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/1613>
- Bandarra, E. P., & Sequeira, J. L. (1999). Tanatologia: fenômenos cadavéricos transformativos. *Revista De Educação Continuada Em Medicina Veterinária E Zootecnia Do CRMV-SP*, 2(3), 72-76. <https://doi.org/10.36440/recmvz.v2i3.3363>
- Beckett, M., Tucker, S., Ozsoy, A. & Connor, M. (2022). Identification of fungi found on desiccated human remains in an arid outdoor environment. *Journal of Forensic Sciences*, 2 – 6. <https://www.researchgate.net/publication/360728354>
- Bendixen, E., Danielsen, M., Larsen, K. & Bendixen, C. (2010). Advances in porcine genomics and proteomics – a toolbox for developing the pig as a model organism for molecular biomedical research. *Oxford Academic Briefings in Functional Genomics*, 9, 208 – 209. <https://doi.org/10.1093/bfgp/elq004>
- Bernardi, A., da Silva, J., Souto, A., & Almeida, C. (2009). Estudo de Fungos Queratinofílicos Geofílicos em Praças Públicas de Jaboticabal – SP. *Revista Uniara* 12(2), 79 – 88. [https://www.uniara.com.br/legado/revistauniara/pdf/23/denilson\\_06.pdf](https://www.uniara.com.br/legado/revistauniara/pdf/23/denilson_06.pdf)
- Bittar, N. (2022). Documentos Médico-Legais. In N. Bittar (Ed.), *Medicina Legal e Noções de Criminalística*. (pp. 38). Editora Foco.
- Caenazzo, L.; Tozzo, P. Microbiome Forensic Biobanking: A Step toward Microbial Profiling for Forensic Human Identification. *Healthcare* 2021, 9, 1371. <https://doi.org/10.3390/healthcare9101371>
- Campobasso, C., Vella, G. & Introna, F. (2001). Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Science International*, 120, 18 – 19. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037907380100411X>
- ChromID by bioMérieux. (2010, Maio). *Gelose chromID™ Candida (CAN2)*. Studocu. <https://www.studocu.com/pt-br/document/universidade-federal-de-pernambuco/biomedicina/gelose-chrom-id-candida-can2/63024158>

Ciesielska, A., Kawa, A., Kanarek, K., Soboń, A., & Szewczyk, R. (2021). Metabolomic analysis of *Trichophyton rubrum* and *Microsporum canis* during keratin degradation. *Scientific reports*, 3959, 1 – 10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83632-z>

Costa, F. (2017). *Aplicações da Micologia Forense no Âmbito Criminal: Uma Revisão Bibliográfica* [Graduação, Universidade do Amazonas]. Repositório Institucional da Universidade do Estado do Amazonas.  
<http://repositorioinstitucional.uea.edu.br//handle/riuea/1462>

Crous, P.W., Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Seifert, K.A., Schroers, H.-J., Chaverri, P., Gené, J., Guarro, J., Hirooka, Y., Bensch, K., Kema, G.H.J., Lamprecht, S.C., Cai, L., Rossman, A.Y., Stadler, M., Summerbell, R.C., Taylor, J.W., Ploch, S., Visagie, C.M.,... Thines, M. (2021). *Fusarium*: more than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in Mycology*, 98(1), 100 – 116. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116>

Cunha, E. (2024, Dezembro, 13). *Antropologia Forense e Investigação Criminal*. [Comunicação]. Ciclo de Palestras, “Ciências às Seis”, Coimbra. <https://apantropologia.org/antropologia-forense-e-investigacao-criminal-c-eugenia-cunha/>

Cursi, Í., de Freitas, L., Neves, M., da Silva, I., & Orofino-Costa, R. (2011). Onicomiose por *Scytalidium spp.*: estudo clínico-epidemiológico em um hospital universitário do Rio de Janeiro, Brasil. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86(4), 689 – 693. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962011000400010>

da Silva, D., da Silva, I., de Melo, M. & Nobre, C. (2023). A Medicina e os Objetivos Atuais da Antropologia Forense. *Revista Ft*, 27(128). DOI: 10.5281/zenodo.10156736

de Andrade, I. (2024). Micologia Forense Aplicada em Investigações Criminais: uma Revisão. *Revista Foco Interdisciplinary Studies*, 17(7), 1 – 38. DOI: 10.54751/revistafoco.v17n7-147

de Brito, E., Fontenelle, R., Brilhante, R., Cordeiro, R., Sidrim, J. & Rocha, M. (2009). Candidose na medicina veterinária: um enfoque micológico, clínico e terapêutico. *Ciência Rural* 39(9), 2655 – 2664. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009000900046>

- de Moraes, R., Leite, I., & Goulart, E. (2008). *Parasitologia & Micologia Humana* (Vol. 5, p. 589). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan: Cultura Médica, 2008. <https://www.meulivro.biz/parasitologia/1351/moraes-parasitologia-e-micologia-humana-5-ed-pdf/>
- de Souza, A. (2020). *O gênero Neoscytalidium e seu papel nas infecções: revisão narrativa da literatura* (p. 60) [Dissertação, Universidade Federal de Santa Catarina]. Repositório Institucional de UFSC. <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/217404>
- DiMaio, V. & Dana, S. (2006). *Handbook of Forensic Pathology*. (2nd. ed.). CRC Press.
- DiMaio, V. & DiMaio, D. (2001). *Forensic Pathology*. (2nd. ed.) CRC Press.
- Douglas, W. (1971). Of pigs and men and research: A Review of Applications and Analogies of the Pig, *sus scrofa*, in Human Medical Research. *Space Life Sciences*, 3, 226 – 228. DOI: 10.1007/BF00928167
- Ferreira, F. (1973). O Fenômeno Parasitismo. *Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 7, 262 – 267. <https://doi.org/10.1590/S0037-86821973000400006>
- Ferreira, M. & Cunha, E. (2012). Será credível estimar o IPM em restos cadavéricos em avançado estado de decomposição? *Cadernos do GEEvH*, 1(2), 7 – 20. [https://www.academia.edu/4468118/Ser%C3%A1\\_cred%C3%ADvel\\_estimar\\_o\\_IPM\\_e\\_m\\_restos\\_cadav%C3%A9ricos\\_em\\_avan%C3%A7ado\\_estado\\_de\\_decomposi%C3%A7%C3%A3o\\_pp\\_7\\_20](https://www.academia.edu/4468118/Ser%C3%A1_cred%C3%ADvel_estimar_o_IPM_e_m_restos_cadav%C3%A9ricos_em_avan%C3%A7ado_estado_de_decomposi%C3%A7%C3%A3o_pp_7_20)
- Ferreira, W. de Sousa, J., Appelberg, R., Azinheira, M., Cabral, M., Fonseca, M., Castro, R., Ferreira, J., Ferreira, H., de Fonseca, A., Lima, N., Mendes, B., Mendes-Faia, A., Pereira, J., Nascimento, M., Novais, R., Oliveira, A., Pampulha, M., Parente, A...Costa, J. (1998). *Microbiologia Volume I*. Lidel – Edições Técnicas Lda.
- Ferreira, W., de Sousa, J., Lima, N., Ângelo, H., Appleberg, R., Azevedo, C., da Rocha, E., Castro, R., Chambel, L., Chaves, S., Côrte-Real, M., Figueiredo, F., Freitas, G., da Fonseca, A., Gonçalves, A., Johansson, B., Leça, A., Carolino, M., Meirinhos-Soares, L...Viveiros, M. (2020). *Microbiologia*. Lidel – Edições Técnicas, Lda.

Filho, R. (2008). *Micologia Forense: A Dinâmica da Microbiota Fúngica na Investigação do Período post mortem* [Pós-Graduação, Universidade Federal do Ceará]. Repositório Institucional da Universidade Federal do Ceará.  
<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/1832>

Forger, L., Woolf, M., Simmons, T., Swall, J. & Singh, B. (2019). A eukaryotic community succession-based method for postmortem interval (PMI) estimation of decomposing porcine remains. *Forensic Science International*, 302, 1 – 10.  
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2019.05.054>

Garrido, R. & Naia, M. (2014). Cronotanatognose: A Influência do Clima Tropical na Determinação do Intervalo Post-Mortem. *Lex Humana*, 6, 181 – 183.  
DOI:10.14195/2175-0947\_6-1\_10

Gemmellaro, D., Lorusso, N., Domke, R., Kovalska, K., Hashim, A., Mojica, M., O'Connor, A., Patel, U., Pate, O., Raise, G., & Shumsaya, M. (2023). Assessment of Metabarcoding in Decomposing Swine Carcasses (*Sus scrofa* L.) Using DNA Metabarcoding. *Journal of Fungi*, 15. <https://doi.org/10.3390/jof9090866>

Goebel, C., Oliveira, F., Severo, L., Picanço, J. & Alho, C. (2010). Análise micológica durante a decomposição cadavérica. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 12, 28 – 32. <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/89732/000901920.pdf?sequence=1>

Gonmori, K. & Yoshioka, N. (2003). The examination of mushroom poisonings at Akita University. *Legal Medicine*, 5, S83 – S86. [https://doi.org/10.1016/S1344-6223\(02\)00127-X](https://doi.org/10.1016/S1344-6223(02)00127-X)

Hau, T., Hamzah, N., Lian, H. & Hamzah, S. (2014). Decomposition Process and Post Mortem Changes: Review (Proses Pereputan dan Perubahan Pasca Kematian: Ulasan). *Sains Malaysiana*, 43(12), páginas 1873 – 1882. DOI:10.17576/jsm-2014-4312-08

Hawksworth, D. & Wiltshire, P. (2011). Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. *Forensic Science International*, 206, 1 – 11.  
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2010.06.012>

- Hitosugi, M., Ishii, K., Yaguchi, T., Chigusa, Y., Kurosu, A., Kido, M., Nagai, T. & Tokudome, S. (2006). Case Report: Fungi can be a useful forensic tool. *Legal Medicine*, 8 240 – 241. <https://doi.org/10.1016/j.legalmed.2006.04.005>
- Hosukler, E., Erkol, Z., Petekkaya, S., Gundogdu, V., & Samurcu, H. (2018). Fungal growth on a corpse: a case report. *Romanian Journal of Legal Medicine* 26(2), 158 – 161. DOI:10.4323/rjlm.2018.349
- INTERPOL. (2018). *Guía de INTERPOL para la Identificación de Víctimas de Catástrofes (IVC), anexo 5*. <https://www.interpol.int/How-we-work/Forensics/Disaster-Victim-Identification-DVI>
- Ilyas, A., Fasih, N., Jabeen, K., Bari, E. & Mahmood, S. (2013). Answer to Photo Quiz: *Neoscytalidium dimidiatum* Infection. *Journal of Clinical Microbiology* 51(10), 3473. [file:///C:/Users/SAMSUNG/Downloads/Answer\\_to\\_October\\_2013\\_Photo\\_Quiz.pdf](file:///C:/Users/SAMSUNG/Downloads/Answer_to_October_2013_Photo_Quiz.pdf)
- Iqbal, M., Ueland, M. & Forbes, S. (2020). Recent Advances in the estimation of post-mortem interval in forensic taphonomy. *Australian Journal of Forensic Sciences*, 52, 107 – 120. <https://doi.org/10.1080/00450618.2018.1459840>
- Kaltseis, J., Rainer, J. & de Hoog, G. (2009). Ecology of *Pseudallescheria* and *Scedosporium* species in human-dominated and natural environments and their distribution in clinical samples. *Medical Mycology*, 47(4), 398 – 405. DOI: 10.1080/13693780802585317
- Kuzmuk, K. & Schook, L. (2010). Pigs as a Model for Biomedical Sciences. *Science Translational Medicine*, 13, 426 – 434. DOI: 10.1126/scitranslmed.abd5758
- Lana, D., Batista, B., Alves, S. & Fuentefria, A. (2016). Dermatofitoses: agentes etiológicos, formas clínicas, terapêutica e novas perspectivas de tratamento. *Clinical & Biomedical Research* 36(4), 230 – 241. DOI: <https://doi.org/10.22456/2357-9730.68880>
- Labopart Medizinische Laboratorien. (s.d.). *Pilzgalerie*. <https://labopart.de/unser-labor/fachbereiche/mykologie/pilzgalerie/>
- Larone, D. (1995). *Medically Important Fungi: a guide to identification*. (3rd rd.). Washington: ASM Press.

- Larone, D. (2011). *Medically Important Fungi: a guide to identification*. (5th ed.). Washington ASM Press.
- Martins, J., de Melo, N., & Heins-Vaccari, E. (2005). *Atlas de Micologia Médica* (p. 170). Editora Malone Ltda.
- Moraes, A., Paes, R. & Holanda, V. (2013). Micologia. *Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde* (pp. 399 – 408).
- Patologia Clínica – CHUC – Coimbra – Portugal. (2024, 15 de outubro). *Atlas Micologia*. <https://atlasmicologia.blogspot.com/>
- Péclat, C., Ribeiro, S. & Lôbo, J. (N.D). Técnicas de Identificação Fúngica: revisão de literatura. *Centro Universitário Alfredo Nasser*. <https://www.unifan.edu.br/unifan/aparecida/wp-content/uploads/sites/2/2023/03/TECNICAS-DE-IDENTIFICACAO-FUNGICA-revisao-de-literatura.pdf>
- Perincherry, L., Lalak-Kanczugowska, J. & Stepien, L. (2019). Fusarium – Produced Mycotoxins in Plants – Pathogen Interactions. *Toxins*, 11(11), 2 – 22. <https://doi.org/10.3390/toxins11110664>
- Pinheiro, D., Reis, A., Jesuíno, R. & da Silva, H. (2012). Variáveis na Estimativa do Intervalo Pós-morte por Métodos de Entomologia Forense. *Enciclopédia Biosfera*, 8, 1443 – 1446. <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/3966>
- Pontarelli, L., Hasse, J., Galindo, C., Coelho, M., Nappi, B. & Ivo-dos-Santos, J. (2005). Case Report – Onychomycosis by *Scytalidium dimidiatum*: report of two cases in Santa Catarina, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 47(6), 351 – 353. <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/fBntBdDwhmgbYbCvFSTWCDf/?format=pdf>
- Porto, A., de Souza, E., Porto, A., Majadas, M., & Porto, A. (2021). Estudo Clínico e Terapêuticos das Dermatofitoses: Revisão de Literatura. *Revista Multidisciplinar em Saúde* 2(3), 1 – 7. DOI: <https://doi.org/10.51161/rem/1146>
- Ruiz, M. & Font, G. (2007). Toxicidad y evaluación de riesgos. Del Castillo et al., *Micotoxinas en Alimentos*, 15 – 16. Díaz de Santos. <https://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479788087.pdf>

- Santos, A. (2003/2004). *Tanatologia Forense*. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Retrieved July 10, 2024, from [https://www.academia.edu/8913421/Faculdade de Medicina da Universidade do Porto\\_TANATOLOGIA\\_FORENSE](https://www.academia.edu/8913421/Faculdade_de_Medicina_da_Universidade_do_Porto_TANATOLOGIA_FORENSE)
- Santos, M. & Dalzoto, P. (2024). Impacto da Micologia Forense nos Últimos 30 Anos. *Revista Criminalística e Medicina Legal*, 9(1), 11 – 17. DOI: <https://doi.org/10.51147/rcml083.2024>
- Saukko, P. & Knight, B. (2004). *Knight's Forensic Pathology*. (3rd. ed.). Hodder Arnold, part of Hachette Livre UK. <http://www.hoddereducation.com>
- Schwarz, P., Dannaoui, E., Gehl, A., Felske-Zech, H., Birngruber, C., Dettmeyer, R., & Verhoff, M. (2014). Molecular identification of fungi found on decomposed human bodies in forensic autopsy cases. *International Journal of Legal Medicine*, 129(2015), 785–791. <https://doi.org/DOI%2010.1007/s00414-014-1118-6>
- Sidrim, J., Filho, R., Cordeiro, R., Rocha, M., Caetano, E., Monteiro, A., & Brilhante, R. (2009). Fungal microbiota dynamics as a post-mortem investigation tool: focus on *Aspergillus*, *Penicillium* and *Candida* species. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 1751 – 1756. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2009.04573.x
- Stefano, P., Velasquez, L., Berberian, G., Simonetti, E., Palma, A., Álvarez, M., Yancoski, J., Bernasconi, A., Oleastro, M., & Cervini, A. (2022). Dermatofitosis por *Microsporium gypseum* en un niño com imunodeficiência primaria. *Arch Argent Pediatr*, 120(3), 128 – 132. DOI:10.5546/aap.2022.e128
- Steffy, Y. (2023). Study of Medical-Legal Techniques in Micology Science as an Application Tool in Forensic Investigations. *iMedPub Journals Medical Mycology*, 9(1:050), 1 – 2. <https://mycology.imedpub.com/articles/study-of-medicolegal-techniques-in-mycology-science-as-an-application-tool-in-forensic-investigations.pdf>
- Szelecz, I., Fournier, B., Seppey, C., Amendt, J. & Mitchell, E. (2014). Can soil testate amoebae be used for estimating the time since death? A field experiment in a deciduous forest. *Forensic Science International*, 236, 90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.12.030>

Tambuzzi, S., Maciocco, F., Gentile, G., Boracchi, M., Bailo, P., Marchesi, M & Zoja, R. (2023). Applications of microbiology to different forensic scenarios – A narrative review. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 98, 1 – 6. <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2023.102560>

The University of Adelaide. (2023, 6 de outubro). *Hyphomycetes (Conidial Moulds)*. <https://www.adelaide.edu.au/mycology/fungal-descriptions-and-antifungal-susceptibility/hyphomycetes-conidial-moulds>

Thomma, B. (2003). *Alternaria spp.*: from general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*, 4(4), 225 – 236. DOI: 10.1046/J.1364-3703.2003.00173.X

Travis, L., Roberts, G., & Wilson, W. (1985). Clinical Significance of *Pseudallescheria boydii*: A Review of 10 Years' Experience. *Mayo Clin Proc*, 60(8), 531–537. [https://doi.org/10.1016/S0025-6196\(12\)60571-0](https://doi.org/10.1016/S0025-6196(12)60571-0)

Van de Vliet, M. & Joossens, M. (2022). The Resemblance between Bacterial Gut Colonization in Pigs and Humans. *Microorganisms*, 10, 1 - 2. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091831>

Voorde, H. & Van Dijck, P. (1982). Determination of the Time of Death by Fungal Growth. *Zeitschrift Fur Rechtsmedizin*, 89. 75 – 80. <https://doi.org/10.1007/BF02092372>

Walsh, T., Hayden, R. & Larone D. (2018). *Larone's Medically Important Fungi: a guide to identification*. (6th ed.). Washington: ASM Press.

Woudenberg, J., Groenewald, J., Binder, M. & Crous, P. (2013). *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology*, 75(1), 171 – 212. doi: 10.3114/sim0015

Yuri. (s.d.). *Fun With Microbiology (What's Buggin'You?)*. <https://thunderhouse4-yuri.blogspot.com/2012/02/absidia-corymbifera-lichtheimia.html>

Zhao, X., Zhong, Z. & Hua, Z. (2022). Estimation of the post-mortem interval by modelling the changes in oral bacterial diversity during decomposition. *Journal of Applied Microbiology*, 3452. DOI: 10.1111/jam.15771

## CAPÍTULO VI – ANEXOS

| CONTROLO 1 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                     |            |        |       |
|-------------------------------|-------|---------------------|------------|--------|-------|
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO              | QUANTIDADE | UFC/pz | TOTAL |
| E1                            | X1N   | Nada                | 0          | 0      | 0     |
|                               | X2N   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X1O   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X2O   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X1B   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X2B   | Nada                | 0          | 0      |       |
| CONTROLO 2 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                     |            |        |       |
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO              | QUANTIDADE | UFC/pz | TOTAL |
| E2                            | X1N   | Nada                | 0          | 0      | 0     |
|                               | X2N   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X1O   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X2O   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X1B   | <i>Cladosporium</i> | 1          | 30     |       |
|                               | X2B   | Nada                | 0          | 0      |       |
| CONTROLO 3 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                     |            |        |       |
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO              | QUANTIDADE | UFC/pz | TOTAL |
| E3                            | X1N   | Nada                | 0          | 0      | 0     |
|                               | X2N   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X1O   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X2O   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X1B   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X2B   | Nada                | 0          | 0      |       |
| CONTROLO 4 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                     |            |        |       |
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO              | QUANTIDADE | UFC/pz | TOTAL |
| E4                            | X1N   | Nada                | 0          | 0      | 0     |
|                               | X2N   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X1O   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X2O   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X1B   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X2B   | Nada                | 0          | 0      |       |
| CONTROLO 5 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                     |            |        |       |
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO              | QUANTIDADE | UFC/pz | TOTAL |
| E5                            | X1N   | Nada                | 0          | 0      | 0     |
|                               | X2N   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X1O   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X2O   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X1B   | Nada                | 0          | 0      |       |
|                               | X2B   | Nada                | 0          | 0      |       |

Anexo 1 – A tabela indica o tempo 0, os porcos (E1 a E5), a placa da qual foram retiradas os swabs (X1N a X2B), os géneros encontrados em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para cada um dos géneros.

| CONTROLO 1 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                        |            |        |       |
|-------------------------------|-------|------------------------|------------|--------|-------|
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO                 | QUANTIDADE | UFC/pz | TOTAL |
| NE1                           | X1N   | Nada                   | 0          | 0      | 0     |
|                               | X2N   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X1O   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X2O   | <i>Fusarium</i>        | 2          | 60     |       |
|                               | X1B   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X2B   | <i>Penicillium</i>     | 2          | 60     |       |
| CONTROLO 2 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                        |            |        |       |
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO                 | QUANTIDADE | UFC/pz | TOTAL |
| NE2                           | X1N   | Nada                   | 0          | 0      | 0     |
|                               | X2N   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X1O   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X2O   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X1B   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X2B   | Nada                   | 0          | 0      |       |
| CONTROLO 3 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                        |            |        |       |
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO                 | QUANTIDADE | UFC/pz | TOTAL |
| NE3                           | X1N   | <i>Acrophialophora</i> | 10         | 300    | 300   |
|                               | X2N   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X1O   | <i>Apophysomyces</i>   | 1          | 30     |       |
|                               | X2O   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X1B   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X2B   | Nada                   | 0          | 0      |       |
| CONTROLO 4 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                        |            |        |       |
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO                 | QUANTIDADE | UFC/pz | TOTAL |
| NE4                           | X1N   | Nada                   | 0          | 0      | 0     |
|                               | X2N   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X1O   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X2O   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X1B   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X2B   | Nada                   | 0          | 0      |       |
| CONTROLO 5 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                        |            |        |       |
| PORCO                         | PLACA | GÉNERO                 | QUANTIDADE | UFC/pz | TOTAL |
| NE5                           | X1N   | <i>Aureobasidium</i>   | 1          | 30     | 30    |
|                               | X2N   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X1O   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X2O   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X1B   | Nada                   | 0          | 0      |       |
|                               | X2B   | Nada                   | 0          | 0      |       |

Anexo 2 – A tabela indica o tempo 0, os porcos (NE1 a NE1), as placas das quais foram retirados os swabs (X1N a X2B), os géneros encontrados em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para cada um dos géneros.

| AMOSTRA 1 - TEMPO 1 (3 DIAS)  |                               |                         |            |        |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------|------------|--------|
| PORCO                         | PLACA                         | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| E1                            | X1N                           | <i>Cunninghamella</i>   | 2          | 60     |
|                               |                               | <i>Scedosporium</i>     | 1          | 30     |
|                               | X2N                           | <i>Beauveria</i>        | 3          | 90     |
|                               |                               | <i>Aspergillus</i>      | 2          | 60     |
|                               | X1O                           | <i>Fusarium</i>         | 3          | 90     |
|                               |                               | <i>Aspergillus</i>      | 4          | 120    |
|                               |                               | <i>Microsporium</i>     | 1          | 30     |
|                               | X2O                           | <i>Penicillium</i>      | 2          | 60     |
|                               |                               | <i>Microsporium</i>     | 4          | 120    |
|                               |                               | <i>Aspergillus</i>      | 2          | 60     |
|                               | X1B                           | <i>Mucor</i>            | 1          | 30     |
|                               |                               | <i>Mucor</i>            | 3          | 90     |
| X2B                           | <i>Epidermophyton</i>         | 3                       | 90         |        |
|                               | <i>Fusarium</i>               | 2                       | 60         |        |
| AMOSTRA 2 - TEMPO 2 (7 DIAS)  |                               |                         |            |        |
| PORCO                         | PLACA                         | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| E2                            | X1N                           | <i>Aspergillus</i>      | 3          | 90     |
|                               |                               | <i>Epidermophyton</i>   | 1          | 30     |
|                               | X2N                           | <i>Heterobasidion</i>   | 2          | 60     |
|                               |                               | <i>Pseudallescheria</i> | 35         | 1050   |
|                               | X1O                           | <i>Epidermophyton</i>   | 1          | 30     |
|                               |                               | <i>Scedosporium</i>     | 1          | 30     |
|                               | X2O                           | <i>Epidermophyton</i>   | 1          | 30     |
|                               |                               | <i>Neoscytalidium</i>   | 4          | 120    |
|                               | X1B                           | <i>Mucor</i>            | 2          | 60     |
|                               |                               | <i>Fusarium</i>         | 51         | 1530   |
|                               | X2B                           | <i>Aspergillus</i>      | 2          | 60     |
|                               |                               | <b>Não identificado</b> | 1          | 30     |
|                               | <i>Fusarium</i>               | 44                      | 1320       |        |
| AMOSTRA 3 - TEMPO 3 (10 DIAS) |                               |                         |            |        |
| PORCO                         | PLACA                         | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| E3                            | X1O                           | <i>Penicillium</i>      | 1          | 30     |
|                               |                               | <i>Aspergillus</i>      | 1          | 30     |
|                               | X1B                           | <i>Fusarium</i>         | 97         | 2910   |
|                               |                               | <i>Trichophyton</i>     | 109        | 3270   |
|                               | X2B                           | <i>Fusarium</i>         | 4          | 120    |
|                               |                               | <i>Epidermophyton</i>   | 78         | 2340   |
|                               |                               | <i>Scedosporium</i>     | 5          | 150    |
|                               | AMOSTRA 4 - TEMPO 4 (14 DIAS) |                         |            |        |
| PORCO                         | PLACA                         | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| E4                            | X1N                           | <i>Fusarium</i>         | 1          | 30     |
|                               |                               | <i>Scedosporium</i>     | 2          | 60     |
|                               | X1B                           | <i>Saksenaia</i>        | 1          | 30     |
|                               |                               | <i>Fusarium</i>         | 36         | 1080   |
|                               | X2B                           | <i>Epidermophyton</i>   | 79         | 2370   |
|                               |                               | <i>Scedosporium</i>     | 2          | 60     |
|                               | <i>Fusarium</i>               | 9                       | 270        |        |
|                               | <i>Epidermophyton</i>         | 120                     | 3600       |        |
|                               | <i>Scedosporium</i>           | 4                       | 120        |        |
| AMOSTRA 5 - TEMPO 5 (17 DIAS) |                               |                         |            |        |
| PORCO                         | PLACA                         | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| E5                            | X1N                           | <i>Fusarium</i>         | 28         | 840    |
|                               |                               | <i>Cunninghamella</i>   | 1          | 30     |
|                               | X2N                           | <i>Fusarium</i>         | 10         | 300    |
|                               |                               | <i>Fusarium</i>         | 4          | 120    |
|                               | X1O                           | <i>Scedosporium</i>     | 8          | 240    |
|                               |                               | <i>Alternaria</i>       | 1          | 30     |
|                               | X2O                           | <i>Fusarium</i>         | 1          | 30     |
|                               |                               | <i>Scedosporium</i>     | 6          | 180    |
|                               | X1B                           | <i>Fusarium</i>         | 58         | 1740   |
|                               |                               | <b>Não identificado</b> | 1          | 30     |
|                               | X2B                           | <i>Scedosporium</i>     | 6          | 180    |
|                               |                               | <i>Fusarium</i>         | 32         | 960    |

Anexo 3 – A tabela indica os tempos (1 a 5), os porcos (E1 a E5), a placa da qual foram retirados os swabs (X1N a X2B), os géneros encontrados em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para cada um dos géneros.

| AMOSTRA 1 - TEMPO 1 (+3 DIAS)  |                     |                         |            |        |
|--------------------------------|---------------------|-------------------------|------------|--------|
| PORCO                          | PLACA               | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| NE1                            | X1N                 | <i>Beauveria</i>        | 1          | 30     |
| AMOSTRA 2 - TEMPO 2 (+7 DIAS)  |                     |                         |            |        |
| PORCO                          | PLACA               | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| NE1                            | X1N                 | <i>Fonsecaea</i>        | 1          | 30     |
|                                | X2N                 | <i>Neoscytalidium</i>   | 1          | 30     |
|                                | X1O                 | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
| AMOSTRA 4 - TEMPO 4 (+14 DIAS) |                     |                         |            |        |
| PORCO                          | PLACA               | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| NE1                            | X1O                 | <i>Apophysomyces</i>    | 1          | 30     |
|                                | X1B                 | <i>Exophiala</i>        | 1          | 30     |
| NE2                            | X1O                 | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
|                                | X2O                 | <i>Scedosporium</i>     | 1          | 30     |
| NE3                            | X1B                 | <i>Epidermophyton</i>   | 1          | 30     |
|                                | X2O                 | <b>Não identificado</b> | 4          | 120    |
| NE4                            | X2B                 | <b>Não identificado</b> | 1          | 30     |
|                                |                     | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
|                                |                     | <i>Fonsecaea</i>        | 1          | 30     |
|                                |                     | <i>Microsporium</i>     | 1          | 30     |
| AMOSTRA 5 - TEMPO 5 (+17 DIAS) |                     |                         |            |        |
| PORCO                          | PLACA               | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| NE1                            | X1O                 | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
| NE2                            | X2O                 | <i>Scedosporium</i>     | 1          | 30     |
| NE3                            | X2O                 | <i>Scedosporium</i>     | 1          | 30     |
|                                |                     | <i>Alternaria</i>       | 6          | 180    |
|                                | X1B                 | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
|                                |                     | <i>Scedosporium</i>     | 3          | 90     |
| X2B                            | <i>Scedosporium</i> | 1                       | 30         |        |
|                                | <i>Fusarium</i>     | 1                       | 30         |        |
| NE4                            | X1B                 | <b>Não identificado</b> | 6          | 180    |
|                                | X2B                 | <b>Não identificado</b> | 1          | 30     |
|                                |                     | <i>Neoscytalidium</i>   | 2          | 60     |

Anexo 4 – A tabela indica os tempos, 1, 2, 4 e 5 (já que no T3 não houve crescimento), os porcos de (NE1 a NE5), as placas das quais foram retiradas os swabs (X1N a X2B), os géneros encontrados em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para cada um dos géneros. As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

| AMOSTRA 6 - TEMPO 6 (+21 DIAS) |       |                         |            |        |
|--------------------------------|-------|-------------------------|------------|--------|
| PORCO                          | PLACA | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| NE1                            | X1B   | <i>Alte maria</i>       | 2          | 60     |
|                                |       | <i>Microsporium</i>     | 10         | 300    |
|                                |       | <i>Trichophyton</i>     | 23         | 690    |
|                                | X2B   | <i>Microsporium</i>     | 5          | 150    |
|                                |       | <i>Aspergillus</i>      | 1          | 30     |
|                                |       | <i>Neoscytalidium</i>   | 22         | 660    |
| NE2                            | X2N   | <i>Trichophyton</i>     | 3          | 90     |
|                                | X1O   | <i>Fusarium</i>         | 3          | 90     |
|                                |       | <i>Neoscytalidium</i>   | 6          | 180    |
|                                | X2O   | <i>Epidermophyton</i>   | 47         | 1410   |
|                                | X2B   | <i>Epidermophyton</i>   | 94         | 2820   |
|                                |       | <b>Não identificado</b> | 9          | 270    |
| NE3                            | X1N   | <i>Cunninghamella</i>   | 2          | 60     |
|                                | X2O   | <i>Epidermophyton</i>   | 3          | 90     |
|                                | X2B   | <i>Microsporium</i>     | 11         | 330    |
| <i>Trichophyton</i>            |       | 1                       | 30         |        |
| NE4                            | X2O   | <i>Alte maria</i>       | 3          | 90     |
|                                |       | <i>Trichophyton</i>     | 3          | 90     |
|                                | X1B   | <i>Microsporium</i>     | 1          | 30     |
|                                |       | <i>Scedosporium</i>     | 3          | 90     |
| NE5                            | X2N   | <b>Não identificado</b> | 1          | 30     |
|                                | X1O   | <i>Neoscytalidium</i>   | 1          | 30     |
|                                | X1B   | <i>Scopulariopsis</i>   | 1          | 30     |
|                                |       | Mistura                 | 2          | 60     |

| AMOSTRA 7 - TEMPO 7 (+24 DIAS) |                         |                         |                     |                   |     |     |
|--------------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|-------------------|-----|-----|
| PORCO                          | PLACA                   | GÉNERO                  | QUANTIDADE          | UFC/pz            |     |     |
| NE1                            | X1N                     | <i>Epidermophyton</i>   | 1                   | 30                |     |     |
|                                | X2N                     | <i>Histoplasma</i>      | 1                   | 30                |     |     |
|                                |                         | <i>Epidermophyton</i>   | 1                   | 30                |     |     |
|                                | X1B                     | <i>Trichophyton</i>     | 43                  | 1290              |     |     |
|                                |                         | <i>Microsporium</i>     | 6                   | 180               |     |     |
|                                |                         | <i>Alternaria</i>       | 2                   | 60                |     |     |
|                                |                         | <i>Phialophora</i>      | 2                   | 60                |     |     |
|                                |                         | <i>Aureobasidium</i>    | 2                   | 60                |     |     |
|                                |                         | <i>Pseudallescheria</i> | 3                   | 90                |     |     |
|                                | X2B                     | <i>Microsporium</i>     | 2                   | 60                |     |     |
| NE2                            | X1O                     | <i>Trichophyton</i>     | 28                  | 840               |     |     |
|                                |                         | <i>Microsporium</i>     | 21                  | 630               |     |     |
|                                |                         | <i>Alternaria</i>       | 2                   | 60                |     |     |
|                                | X2O                     | <i>Sporothrix</i>       | 1                   | 30                |     |     |
|                                |                         | <i>Pseudallescheria</i> | 5                   | 150               |     |     |
|                                |                         | <i>Microsporium</i>     | 8                   | 240               |     |     |
|                                | X2B                     | <i>Trichophyton</i>     | 64                  | 1920              |     |     |
|                                |                         | <i>Alternaria</i>       | 42                  | 1260              |     |     |
|                                |                         | NE3                     | X1B                 | <i>Alternaria</i> | 23  | 690 |
|                                |                         |                         | <i>Scedosporium</i> | 4                 | 120 |     |
| X2B                            | <i>Alternaria</i>       | 5                       | 150                 |                   |     |     |
|                                | <b>Não identificado</b> | 6                       | 180                 |                   |     |     |
|                                | <i>Microsporium</i>     | 5                       | 150                 |                   |     |     |
| NE4                            | X1O                     | <i>Trichophyton</i>     | 4                   | 120               |     |     |
|                                |                         | <i>Microsporium</i>     | 1                   | 30                |     |     |
|                                | X2O                     | <i>Alternaria</i>       | 2                   | 60                |     |     |
|                                |                         | <i>Scopulariopsis</i>   | 1                   | 30                |     |     |
| NE5                            | X1N                     | <i>Alternaria</i>       | 2                   | 60                |     |     |
|                                |                         | <b>Não identificado</b> | 1                   | 30                |     |     |
|                                | X1O                     | <i>Alternaria</i>       | 5                   | 150               |     |     |
|                                |                         | <i>Fusarium</i>         | 2                   | 60                |     |     |
|                                |                         | <i>Pseudallescheria</i> | 2                   | 60                |     |     |
|                                |                         | <i>Microsporium</i>     | 2                   | 60                |     |     |
|                                | X1B                     | <i>Microsporium</i>     | 2                   | 60                |     |     |
|                                |                         | <i>Alternaria</i>       | 11                  | 330               |     |     |
|                                |                         | <i>Neoscytalidium</i>   | 3                   | 90                |     |     |
|                                |                         | <i>Sporothrix</i>       | 1                   | 30                |     |     |
| X2B                            | <i>Acrophialophora</i>  | 1                       | 30                  |                   |     |     |
|                                | <i>Alternaria</i>       | 1                       | 30                  |                   |     |     |
|                                | <b>Não identificado</b> | 5                       | 150                 |                   |     |     |
|                                | <i>Microsporium</i>     | 1                       | 30                  |                   |     |     |

Anexo 5 – A tabela indica o T6 e o T7, os porcos NE1 a NE5, as placas das quais foram retiradas os swabs (X1N a X2B), os géneros encontrados em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para cada um dos géneros. As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

| AMOSTRA 8 - TEMPO 8 (+28 DIAS) |                     |                         |            |        |
|--------------------------------|---------------------|-------------------------|------------|--------|
| PORCO                          | PLACA               | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| NE1                            | X1O                 | <i>Alternaria</i>       | 1          | 30     |
|                                |                     | <b>Não identificado</b> | 1          | 30     |
|                                | X2B                 | <i>Alternaria</i>       | 2          | 60     |
|                                |                     | <i>Cunninghamella</i>   | 1          | 30     |
| NE2                            | X1O                 | <b>Não identificado</b> | 1          | 30     |
|                                | X2O                 | <i>Microsporium</i>     | 1          | 30     |
|                                |                     | <b>Não identificado</b> | 5          | 150    |
|                                | X1B                 | <i>Microsporium</i>     | 9          | 270    |
|                                |                     | <i>Epidermophyton</i>   | 1          | 30     |
|                                |                     | <i>Trichophyton</i>     | 6          | 180    |
| X2B                            | <i>Alternaria</i>   | 2                       | 60         |        |
|                                | <i>Microsporium</i> | 1                       | 30         |        |
| NE3                            | X1N                 | <i>Microsporium</i>     | 1          | 30     |
|                                | X2O                 | <i>Scopulariopsis</i>   | 1          | 30     |
|                                |                     | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
|                                | X1B                 | <i>Microsporium</i>     | 1          | 30     |
| <b>Não identificado</b>        |                     | 1                       | 30         |        |
| NE4                            | X1O                 | <i>Neoscytalidium</i>   | 1          | 30     |
|                                | X2O                 | <i>Acrophialophora</i>  | 2          | 60     |
|                                |                     | <i>Aureobasidium</i>    | 2          | 60     |
|                                | X1B                 | <i>Cunninghamella</i>   | 1          | 30     |
|                                |                     | <i>Trichophyton</i>     | 6          | 180    |
| X2B                            | <i>Microsporium</i> | 2                       | 60         |        |
| NE5                            | X1N                 | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |

| AMOSTRA 9 - TEMPO 9 (+31 DIAS) |                       |                         |            |        |
|--------------------------------|-----------------------|-------------------------|------------|--------|
| PORCO                          | PLACA                 | GÉNERO                  | QUANTIDADE | UFC/pz |
| NE1                            | X2N                   | <i>Neoscytalidium</i>   | 1          | 30     |
|                                | X2O                   | <i>Epidermophyton</i>   | 18         | 540    |
|                                |                       | <i>Trichophyton</i>     | 3          | 90     |
|                                | X1B                   | <i>Microsporium</i>     | 1          | 30     |
|                                |                       | <b>Não identificado</b> | 1          | 30     |
|                                | X2B                   | <i>Trichophyton</i>     | 2          | 60     |
| <i>Alternaria</i>              |                       | 1                       | 30         |        |
| NE2                            | X2N                   | <b>Não identificado</b> | 1          | 30     |
|                                |                       | <i>Arthrographis</i>    | 1          | 30     |
|                                | X1O                   | <i>Cunninghamella</i>   | 1          | 30     |
|                                |                       | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
|                                | X2O                   | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
|                                |                       | <i>Alternaria</i>       | 13         | 390    |
| X1B                            | <i>Trichophyton</i>   | 18                      | 540        |        |
| NE3                            | X1O                   | <i>Madurella</i>        | 1          | 30     |
|                                | X2O                   | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
|                                |                       | <i>Paecilomyces</i>     | 2          | 60     |
|                                | X1B                   | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
| <i>Scopulariopsis</i>          |                       | 1                       | 30         |        |
| NE4                            | X2N                   | <i>Scopulariopsis</i>   | 1          | 30     |
|                                | X1O                   | <i>Mucor</i>            | 1          | 30     |
|                                | X2O                   | <i>Mucor</i>            | 1          | 30     |
|                                | X1B                   | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
|                                | X2B                   | <i>Trichophyton</i>     | 3          | 90     |
| NE5                            | X2O                   | <i>Alternaria</i>       | 4          | 120    |
|                                |                       | <i>Microsporium</i>     | 1          | 30     |
|                                | X1B                   | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
|                                |                       | <i>Trichophyton</i>     | 1          | 30     |
| X2B                            | <i>Scopulariopsis</i> | 2                       | 60         |        |
|                                | <i>Scopulariopsis</i> | 1                       | 30         |        |
|                                |                       | <i>Microsporium</i>     | 1          | 30     |

Anexo 6 – A tabela indica o T8 e o T9, os porcos NE1 a NE5, as placas das quais foram retiradas os swabs (X1N a X2B), os géneros encontrados em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para cada um dos géneros. As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

*O Uso da Micologia Forense como Ferramenta para Estimativa do Intervalo Post-mortem*

| Fusarium            |       |         |                     |       |     |                        |       |         |                      | Microsporium |     |                     |       |     |                     |       |     |                        |       |        |                      |       |     |              |       |     |              |       |     |              |       |     |  |  |  |
|---------------------|-------|---------|---------------------|-------|-----|------------------------|-------|---------|----------------------|--------------|-----|---------------------|-------|-----|---------------------|-------|-----|------------------------|-------|--------|----------------------|-------|-----|--------------|-------|-----|--------------|-------|-----|--------------|-------|-----|--|--|--|
| Replicados do Nariz |       |         | Replicados da Oreha |       |     | Replicados da Bochecha |       |         | Total dos replicados |              |     | Replicados do Nariz |       |     | Replicados da Oreha |       |     | Replicados da Bochecha |       |        | Total dos replicados |       |     |              |       |     |              |       |     |              |       |     |  |  |  |
| TEMPO (dias)        | MÉDIA | STD     | TEMPO (dias)        | MÉDIA | STD | TEMPO (dias)           | MÉDIA | STD     | TEMPO (dias)         | MÉDIA        | STD | TEMPO (dias)        | MÉDIA | STD | TEMPO (dias)        | MÉDIA | STD | TEMPO (dias)           | MÉDIA | STD    | TEMPO (dias)         | MÉDIA | STD | TEMPO (dias) | MÉDIA | STD | TEMPO (dias) | MÉDIA | STD | TEMPO (dias) | MÉDIA | STD |  |  |  |
| 3                   | 45    | 63,640  |                     |       |     | 3                      | 30    | 42,426  | 3                    | 25           |     |                     |       |     |                     |       |     | 3                      | 75    | 63,640 |                      |       |     | 3            | 25    |     |              |       |     |              |       |     |  |  |  |
| 14                  | 15    | 21,213  |                     |       |     | 7                      | 1425  | 148,892 | 7                    | 475          |     |                     |       |     |                     |       |     |                        |       |        |                      |       |     |              |       |     |              |       |     |              |       |     |  |  |  |
| 17                  | 570   | 381,838 |                     |       |     | 30                     | 1315  | 197,328 | 30                   | 565          |     |                     |       |     |                     |       |     |                        |       |        |                      |       |     |              |       |     |              |       |     |              |       |     |  |  |  |
|                     |       |         |                     |       |     | 14                     | 675   | 572,756 | 14                   | 230          |     |                     |       |     |                     |       |     |                        |       |        |                      |       |     |              |       |     |              |       |     |              |       |     |  |  |  |
|                     |       |         |                     |       |     | 17                     | 1350  | 551,543 | 17                   | 665          |     |                     |       |     |                     |       |     |                        |       |        |                      |       |     |              |       |     |              |       |     |              |       |     |  |  |  |

Anexo 7 – Separação das UFC/pz para as espécies de fungos isoladas, contendo o tempo (em dias), a média, o STD e a média total dos replicados nos tempos 0 a 5 para os porcos E1 a E5.

| Beauveria           |       |       |                     |       |     |                        |       |     |                      | Aureobasidium |     |                     |       |     |                     |       |     |                        |       |       |                      |       |        |              |       |        |              |       |     |              |       |     |  |  |  |  |  |
|---------------------|-------|-------|---------------------|-------|-----|------------------------|-------|-----|----------------------|---------------|-----|---------------------|-------|-----|---------------------|-------|-----|------------------------|-------|-------|----------------------|-------|--------|--------------|-------|--------|--------------|-------|-----|--------------|-------|-----|--|--|--|--|--|
| Replicados do Nariz |       |       | Replicados da Oreha |       |     | Replicados da Bochecha |       |     | Total dos replicados |               |     | Replicados do Nariz |       |     | Replicados da Oreha |       |     | Replicados da Bochecha |       |       | Total dos replicados |       |        |              |       |        |              |       |     |              |       |     |  |  |  |  |  |
| TEMPO (dias)        | MÉDIA | STD   | TEMPO (dias)        | MÉDIA | STD | TEMPO (dias)           | MÉDIA | STD | TEMPO (dias)         | MÉDIA         | STD | TEMPO (dias)        | MÉDIA | STD | TEMPO (dias)        | MÉDIA | STD | TEMPO (dias)           | MÉDIA | STD   | TEMPO (dias)         | MÉDIA | STD    | TEMPO (dias) | MÉDIA | STD    | TEMPO (dias) | MÉDIA | STD | TEMPO (dias) | MÉDIA | STD |  |  |  |  |  |
| 3                   | 3     | 9,487 |                     |       |     |                        |       |     |                      |               |     |                     |       |     |                     |       |     | 0                      | 3     | 9,487 | 28                   | 6     | 18,974 | 24           | 6     | 18,974 | 0            | 2     |     |              |       |     |  |  |  |  |  |
|                     |       |       |                     |       |     |                        |       |     |                      |               |     |                     |       |     |                     |       |     |                        |       |       |                      |       |        |              |       |        |              |       |     |              |       |     |  |  |  |  |  |
|                     |       |       |                     |       |     |                        |       |     |                      |               |     |                     |       |     |                     |       |     |                        |       |       |                      |       |        |              |       |        |              |       |     |              |       |     |  |  |  |  |  |
|                     |       |       |                     |       |     |                        |       |     |                      |               |     |                     |       |     |                     |       |     |                        |       |       |                      |       |        |              |       |        |              |       |     |              |       |     |  |  |  |  |  |
|                     |       |       |                     |       |     |                        |       |     |                      |               |     |                     |       |     |                     |       |     |                        |       |       |                      |       |        |              |       |        |              |       |     |              |       |     |  |  |  |  |  |

Anexo 8 – Separação das UFC/pz para as espécies de fungos isoladas, contendo o tempo (em dias), a média, o STD e a média total dos replicados nos tempos 0 a 9 para os porcos NE1 a NE5.

| CONTROLO 1 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       | AMOSTRA 1 - TEMPO 1 (+3 DIAS)  |       |                    |            |       |       |
|-------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|--------------------------------|-------|--------------------|------------|-------|-------|
| Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total | Porco                          | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC   | Total |
| E1                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 158        | 4740   | 5820  | E1                             | X1N   | <i>C. albicans</i> | 298        | 8940  | 12390 |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 36         | 1080   |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 115        | 3450  |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 99         | 2970   |       |                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 200        | 6000  | 9450  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 21         | 630    |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 115        | 3450  |       |
| CONTROLO 2 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       | AMOSTRA 2 - TEMPO 0 (+7 DIAS)  |       |                    |            |       |       |
| Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC    | Total | Porco                          | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC   | Total |
| E2                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 45         | 1350   | 1980  | E2                             | X1N   | <i>C. albicans</i> | 12         | 360   | 450   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 21         | 630    |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90    |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 66         | 1980   |       |                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 9          | 270   | 360   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 33         | 990    |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90    |       |
| CONTROLO 3 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       | AMOSTRA 3 - TEMPO 0 (+10 DIAS) |       |                    |            |       |       |
| Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC    | Total | Porco                          | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC   | Total |
| E3                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 36         | 1080   | 1290  | E3                             | X1N   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30    | 420   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 7          | 210    |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 13         | 390   |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 5          | 150    |       |                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30    | 510   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 7          | 210    |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 16         | 480   |       |
| CONTROLO 4 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       | AMOSTRA 4 - TEMPO 0 (+14 DIAS) |       |                    |            |       |       |
| Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC    | Total | Porco                          | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC   | Total |
| E4                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 6          | 180    | 240   | E4                             | X1N   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60    | 600   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 2          | 60     |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 18         | 540   |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60     |       |                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30    | 60    |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 17         | 510    |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30    |       |
| CONTROLO 5 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       | AMOSTRA 5 - TEMPO 0 (+17 DIAS) |       |                    |            |       |       |
| Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC    | Total | Porco                          | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC   | Total |
| E5                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60     | 90    | E5                             | X1N   | <i>C. albicans</i> | 7          | 210   | 20550 |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 678        | 20340 |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     |       |                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 14         | 420   | 10650 |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 341        | 10230 |       |

Anexo 9 – A tabela indica os tempos de 0 a 5, os porcos E1 a E5, as placas das quais foram retiradas os swabs (apenas do nariz), a espécie (*C. albicans*) e o género (*Candida sp.*) em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para *C. albicans* e *Candida sp.* As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

| CONTROLO 1 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |      |       | AMOSTRA 1 - TEMPO 1 (3 DIAS)  |       |                    |            |      |       |
|-------------------------------|-------|--------------------|------------|------|-------|-------------------------------|-------|--------------------|------------|------|-------|
| Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC  | Total | Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC  | Total |
| E1                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30   | 60    | E1                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 10         | 300  | 540   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30   |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 8          | 240  |       |
|                               | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0    |       |                               | X2O   | <i>C. albicans</i> | 3          | 90   | 300   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30   |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 7          | 210  |       |
| CONTROLO 2 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |      |       | AMOSTRA 2 - TEMPO 2 (7 DIAS)  |       |                    |            |      |       |
| Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC  | Total | Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC  | Total |
| E2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 4          | 120  | 150   | E2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 8          | 240  | 1830  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30   |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 53         | 1590 |       |
|                               | X2O   | <i>C. albicans</i> | 3          | 90   |       |                               | X2O   | <i>C. albicans</i> | 8          | 240  | 390   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 4          | 120  |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 5          | 150  |       |
| CONTROLO 3 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |      |       | AMOSTRA 3 - TEMPO 3 (10 DIAS) |       |                    |            |      |       |
| Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC  | Total | Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC  | Total |
| E3                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60   | 60    | E3                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0    | 2100  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0    |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 70         | 2100 |       |
|                               | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0    |       |                               | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0    | 840   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30   |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 28         | 840  |       |
| CONTROLO 4 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |      |       | AMOSTRA 4 - TEMPO 4 (14 DIAS) |       |                    |            |      |       |
| Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC  | Total | Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC  | Total |
| E4                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60   | 120   | E4                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 11         | 330  | 690   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 2          | 60   |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 12         | 360  |       |
|                               | X2O   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60   |       |                               | X2O   | <i>C. albicans</i> | 3          | 90   | 4290  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30   |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 140        | 4200 |       |
| CONTROLO 5 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |      |       | AMOSTRA 5 - TEMPO 5 (17 DIAS) |       |                    |            |      |       |
| Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC  | Total | Porco                         | Placa | Gênero             | Quantidade | UFC  | Total |
| E5                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 43         | 1290 | 1530  | E5                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60   | 2070  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 8          | 240  |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 67         | 2010 |       |
|                               | X2O   | <i>C. albicans</i> | 11         | 330  |       |                               | X2O   | <i>C. albicans</i> | 3          | 90   | 1440  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30   |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 45         | 1350 |       |

Anexo 10 – A tabela indica os tempos de 0 a 5, os porcos E1 a E5, as placas das quais foram retiradas os swabs (apenas da orelha), a espécie (*C. albicans*) e o género (*Candida sp.*) em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para *C. albicans* e *Candida sp.* As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

| CONTROLO 1 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |      |       | AMOSTRA 1 - TEMPO 1 (+3 DIAS)  |       |                    |            |       |       |
|-------------------------------|-------|--------------------|------------|------|-------|--------------------------------|-------|--------------------|------------|-------|-------|
| Porco                         | Placa | Género             | Quantidade | UFC  | Total | Porco                          | Placa | Género             | Quantidade | UFC   | Total |
| E1                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 17         | 510  | 870   | E1                             | X1B   | <i>C. albicans</i> | 87         | 2610  | 4140  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 12         | 360  |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 51         | 1530  |       |
|                               | X2B   | <i>C. albicans</i> | 25         | 750  | 780   |                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 56         | 1680  | 2970  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30   |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 43         | 1290  |       |
| CONTROLO 2 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |      |       | AMOSTRA 2 - TEMPO 0 (+7 DIAS)  |       |                    |            |       |       |
| Porco                         | Placa | Género             | Quantidade | UFC  | Total | Porco                          | Placa | Género             | Quantidade | UFC   | Total |
| E2                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 14         | 420  | 630   | E2                             | X1B   | <i>C. albicans</i> | 374        | 11220 | 12450 |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 7          | 210  |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 41         | 1230  |       |
|                               | X2B   | <i>C. albicans</i> | 11         | 330  | 480   |                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 450        | 13500 | 16350 |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 5          | 150  |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 95         | 2850  |       |
| CONTROLO 3 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |      |       | AMOSTRA 3 - TEMPO 0 (+10 DIAS) |       |                    |            |       |       |
| Porco                         | Placa | Género             | Quantidade | UFC  | Total | Porco                          | Placa | Género             | Quantidade | UFC   | Total |
| E3                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 31         | 930  | 1560  | E3                             | X1B   | <i>C. albicans</i> | 157        | 4710  | 9630  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 21         | 630  |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 164        | 4920  |       |
|                               | X2B   | <i>C. albicans</i> | 22         | 660  | 1230  |                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 138        | 4140  | 16020 |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 19         | 570  |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 396        | 11880 |       |
| CONTROLO 4 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |      |       | AMOSTRA 4 - TEMPO 0 (+14 DIAS) |       |                    |            |       |       |
| Porco                         | Placa | Género             | Quantidade | UFC  | Total | Porco                          | Placa | Género             | Quantidade | UFC   | Total |
| E4                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 43         | 1290 | 1530  | E4                             | X1B   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30    | 210   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 8          | 240  |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 6          | 180   |       |
|                               | X2B   | <i>C. albicans</i> | 11         | 330  | 360   |                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0     | 30    |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30   |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30    |       |
| CONTROLO 5 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |      |       | AMOSTRA 5 - TEMPO 0 (+17 DIAS) |       |                    |            |       |       |
| Porco                         | Placa | Género             | Quantidade | UFC  | Total | Porco                          | Placa | Género             | Quantidade | UFC   | Total |
| E5                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 6          | 180  | 210   | E5                             | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0     | 570   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30   |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 19         | 570   |       |
|                               | X2B   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30   | 120   |                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0     | 0     |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90   |       |                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0     |       |

Anexo 11 – A tabela indica os tempos de 0 a 5, os porcos E1 a E5, as placas das quais foram retiradas os swabs (apenas da bochecha), a espécie (*C. albicans*) e o género (*Candida sp.*) em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para *C. albicans* e *Candida sp.* As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

| CONTROLO 1 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       | AMOSTRA 1 - TEMPO 1 (+3 DIAS) |       |                    |            |        |       |
|-------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|-------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total | Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 16         | 480    | 570   | NE1                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 4          | 120    | 1770  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90     |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 55         | 1650   |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 17         | 510    | 510   |                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 1530  |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 50         | 1500   |       |
| CONTROLO 2 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       | AMOSTRA 2 - TEMPO 2 (+7 DIAS) |       |                    |            |        |       |
| Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total | Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE2                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 127        | 3810   | 4380  | NE1                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 19         | 570    |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 41         | 1230   | 1380  |                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 30    |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 5          | 150    |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| CONTROLO 3 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       | AMOSTRA 2 - TEMPO 2 (+7 DIAS) |       |                    |            |        |       |
| Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total | Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE3                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 18         | 540    | 1140  | NE1                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 20         | 600    |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 3          | 90     | 180   |                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 30    |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90     |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| CONTROLO 4 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       | AMOSTRA 2 - TEMPO 2 (+7 DIAS) |       |                    |            |        |       |
| Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total | Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE4                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 41         | 1230   | 1350  | NE1                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 4          | 120    |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 78         | 2340   | 2700  |                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 30    |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 12         | 360    |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| CONTROLO 5 - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       | AMOSTRA 2 - TEMPO 2 (+7 DIAS) |       |                    |            |        |       |
| Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total | Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE5                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 100        | 3000   | 4320  | NE2                           | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 44         | 1320   |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 50         | 1500   | 2550  |                               | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 35         | 1050   |       |                               |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |

Anexo 12 – A tabela indica os tempos de 0 a 2, os porcos NE1 a NE5, as placas das quais foram retiradas os swabs (apenas do nariz), a espécie (*C. albicans*) e o género (*Candida sp.*) em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para *C. albicans* e *Candida sp.* As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

| AMOSTRA 3 - TEMPO 3 (+10 DIAS) |       |                    |            |         |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|---------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz  | Total |
| NE2                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30      |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |
| AMOSTRA 5 - TEMPO 5 (+17 DIAS) |       |                    |            |         |       |
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz  | Total |
| NE2                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30      |       |
| NE5                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30      |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30      |       |
| AMOSTRA 6 - TEMPO 6 (+21 DIAS) |       |                    |            |         |       |
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/p.z | Total |
| NE1                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 450   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 15         | 450     |       |
| AMOSTRA 7 - TEMPO 7 (+24 DIAS) |       |                    |            |         |       |
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/p.z | Total |
| NE4                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 510   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 17         | 510     |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30      |       |
| AMOSTRA 8 - TEMPO 8 (+28 DIAS) |       |                    |            |         |       |
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/p.z | Total |
| NE4                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 60    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 2          | 60      |       |
| NE5                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 120   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 4          | 120     |       |
| AMOSTRA 9 - TEMPO 9 (+31 DIAS) |       |                    |            |         |       |
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/p.z | Total |
| NE3                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60      | 60    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |
| NE5                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30      | 60    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30      |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30      | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |

Anexo 13 – A tabela indica os tempos de 3 a 9, os porcos NE1 a NE5, as placas das quais foram retiradas os swabs (apenas do nariz), a espécie (*C. albicans*) e o género (*Candida sp.*) em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para *C. albicans* e *Candida sp.* As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

| CONTROLO - TEMPO 0 (0 DIAS)    |       |                    |            |        |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 5          | 150    | 150   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| NE2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 24         | 720    | 720   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 17         | 510    | 510   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| NE3                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 12         | 360    | 480   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 4          | 120    |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 3          | 90     | 120   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |
| NE4                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 6          | 180    | 300   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 4          | 120    |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 4          | 120    | 210   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90     |       |
| NE5                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 5          | 150    | 180   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| AMOSTRA 1 - TEMPO 1 (+3 DIAS)  |       |                    |            |        |       |
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 5          | 150    | 240   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90     |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 4          | 120    | 570   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 15         | 450    |       |
| AMOSTRA 2 - TEMPO 2 (+7 DIAS)  |       |                    |            |        |       |
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 3          | 90     | 90    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| AMOSTRA 3 - TEMPO 3 (+10 DIAS) |       |                    |            |        |       |
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| NE3                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 6          | 180    | 570   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 13         | 390    |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 6          | 180    | 390   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 7          | 210    |       |
| AMOSTRA 4 - TEMPO 4 (+14 DIAS) |       |                    |            |        |       |
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 150   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 5          | 150    |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| NE2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 240   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 8          | 240    |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 11         | 330    | 780   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 15         | 450    |       |
| NE3                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 1380  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 46         | 1380   |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 5          | 150    | 150   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| NE4                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |
| AMOSTRA 5 - TEMPO 5 (+17 DIAS) |       |                    |            |        |       |
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 1650  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 55         | 1650   |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60     | 7590  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 251        | 7530   |       |
| NE2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 45420 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1514       | 45420  |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 25         | 750    | 6720  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 199        | 5970   |       |
| NE3                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 30930 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1031       | 30930  |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 4          | 120    | 12240 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 404        | 12120  |       |
| NE4                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 3          | 90     | 9270  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 306        | 9180   |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| NE5                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 390   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 13         | 390    |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 330   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 11         | 330    |       |

Anexo 14 – A tabela indica os tempos de 0 a 5, os porcos NE1 a NE5, as placas das quais foram retiradas os swabs (apenas da orelha), a espécie (*C. albicans*) e o género (*Candida sp.*) em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para *C. albicans* e *Candida sp.* As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

| AMOSTRA 6 - TEMPO 6 (+21 DIAS) |       |                    |            |        |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 1530  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 51         | 1530   |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 1200  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 40         | 1200   |       |
| NE2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 37         | 1110   | 8490  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 246        | 7380   |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 56         | 1680   | 6300  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 154        | 4620   |       |
| NE3                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 6          | 180    | 2400  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 74         | 2220   |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60     | 1800  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 58         | 1740   |       |
| NE4                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 149        | 4470   | 7800  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 111        | 3330   |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 141        | 4230   | 5400  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 39         | 1170   |       |
| NE5                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 1320  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 44         | 1320   |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 600   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 20         | 600    |       |

| AMOSTRA 7 - TEMPO 7 (+24 DIAS) |       |                    |            |        |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 330   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 11         | 330    |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 330   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 11         | 330    |       |
| NE2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 480   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 16         | 480    |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 270   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 9          | 270    |       |
| NE3                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 60    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 2          | 60     |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 1620  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 54         | 1620   |       |
| NE5                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 90    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90     |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 270   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 9          | 270    |       |

| AMOSTRA 8 - TEMPO 8 (+28 DIAS) |       |                    |            |        |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 4          | 120    | 12390 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 409        | 12270  |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 4470  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 149        | 4470   |       |
| NE2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60     | 50670 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1687       | 50610  |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 28290 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 943        | 28290  |       |
| NE3                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 14790 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 493        | 14790  |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 12060 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 401        | 12030  |       |
| NE4                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 120   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 4          | 120    |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 570   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 19         | 570    |       |
| NE5                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 990   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 33         | 990    |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |

| AMOSTRA 9 - TEMPO 9 (+31 DIAS) |       |                    |            |        |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 3          | 90     | 6090  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 200        | 6000   |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 3360  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 111        | 3330   |       |
| NE2                            | X1O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2O   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 36750 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1225       | 36750  |       |
| NE3                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60     | 15090 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 501        | 15030  |       |
| NE5                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 150   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 5          | 150    |       |

Anexo 15 – A tabela indica os tempos de 6 a 9, os porcos NE1 a NE5, as placas das quais foram retiradas os swabs (apenas da orelha), a espécie (*C. albicans*) e o género (*Candida sp.*) em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para *C. albicans* e *Candida sp.* As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

| CONTROLO - TEMPO 0 (0 DIAS) |       |                    |            |        |       |
|-----------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                       | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                         | X1B   | <i>C. albicans</i> | 16         | 480    | 900   |
|                             |       | <i>Candida sp.</i> | 14         | 420    |       |
|                             | X2B   | <i>C. albicans</i> | 21         | 630    | 1170  |
|                             |       | <i>Candida sp.</i> | 18         | 540    |       |
| NE2                         | X1B   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60     | 90    |
|                             |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |
|                             | X2B   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60     | 60    |
|                             |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
| NE3                         | X1B   | <i>C. albicans</i> | 73         | 2190   | 2820  |
|                             |       | <i>Candida sp.</i> | 21         | 630    |       |
|                             | X2B   | <i>C. albicans</i> | 48         | 1440   | 1890  |
|                             |       | <i>Candida sp.</i> | 15         | 450    |       |
| NE4                         | X1B   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 60    |
|                             |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |
|                             | X2B   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 60    |
|                             |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |
| NE5                         | X1B   | <i>C. albicans</i> | 40         | 1200   | 1290  |
|                             |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90     |       |
|                             | X2B   | <i>C. albicans</i> | 12         | 360    | 360   |
|                             |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |

| AMOSTRA 1 - TEMPO 1 (+3 DIAS) |       |                    |            |         |       |
|-------------------------------|-------|--------------------|------------|---------|-------|
| Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/p.z | Total |
| NE1                           | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 150   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 5          | 150     |       |
|                               | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 60    |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 2          | 60      |       |

| AMOSTRA 2 - TEMPO 2 (+7 DIAS) |       |                    |            |         |       |
|-------------------------------|-------|--------------------|------------|---------|-------|
| Porco                         | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/p.z | Total |
| NE2                           | X1B   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30      | 180   |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 5          | 150     |       |
|                               | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 30    |
|                               |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30      |       |

| AMOSTRA 5 - TEMPO 5 (+17 DIAS) |       |                    |            |         |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|---------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/p.z | Total |
| NE1                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 60    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 2          | 60      |       |
| NE2                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 150   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 5          | 150     |       |
| NE3                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0       |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 7          | 210     | 1680  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 49         | 1470    |       |
| NE4                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 10         | 300     | 600   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 10         | 300     |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 90    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90      |       |
| NE5                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30      |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0       | 180   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 6          | 180     |       |

Anexo 16 – A tabela indica os tempos de 0 a 5, os porcos NE1 a NE5, as placas das quais foram retiradas os swabs (apenas da bochecha), a espécie (*C. albicans*) e o género (*Candida sp.*) em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para *C. albicans* e *Candida sp.* As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.

| AMOSTRA 6 - TEMPO 6 (+21 DIAS) |       |                    |            |        |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 7          | 210    | 1260  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 35         | 1050   |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 8          | 240    |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 56         | 1680   | 1920  |
| NE2                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 180   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 5          | 150    |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 6          | 180    |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 33         | 990    | 1170  |
| NE3                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 300        | 9000   | 15810 |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 227        | 6810   |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 150        | 4500   |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 251        | 7530   | 12030 |
| NE4                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 270   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 9          | 270    |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 37         | 1110   | 1110  |
| NE5                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 450   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 15         | 450    |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 27         | 810    | 810   |

| AMOSTRA 8 - TEMPO 8 (+28 DIAS) |       |                    |            |        |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 300   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 10         | 300    |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 9          | 270    | 300   |
| NE2                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 29         | 870    | 900   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 3          | 90     |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 2          | 60     | 150   |
| NE3                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 4          | 120    | 720   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 20         | 600    |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     | 30    |
| NE4                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60     |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     | 90    |
| NE5                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 9          | 270    | 270   |

| AMOSTRA 7 - TEMPO 7 (+24 DIAS) |       |                    |            |        |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 60    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 2          | 60     |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      | 0     |
| NE3                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 1920  |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 64         | 1920   |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 7          | 210    | 210   |
| NE5                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 270   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 9          | 270    |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 3          | 90     | 90    |

| AMOSTRA 9 - TEMPO 9 (+31 DIAS) |       |                    |            |        |       |
|--------------------------------|-------|--------------------|------------|--------|-------|
| Porco                          | Placa | Colónias           | Quantidade | UFC/pz | Total |
| NE1                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 0     |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 8          | 240    | 270   |
| NE2                            | X1B   | <i>C. albicans</i> | 1          | 30     | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      |       |
|                                | X2B   | <i>C. albicans</i> | 2          | 60     |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 2          | 60     | 120   |
| NE3                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 4          | 120    | 420   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 10         | 300    |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 2          | 60     | 60    |
| NE4                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 150   |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 5          | 150    |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     | 30    |
| NE5                            | X1N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      | 30    |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 1          | 30     |       |
|                                | X2N   | <i>C. albicans</i> | 0          | 0      |       |
|                                |       | <i>Candida sp.</i> | 0          | 0      | 0     |

Anexo 17 – A tabela indica os tempos de 6 a 9, os porcos NE1 a NE5, as placas das quais foram retiradas os swabs (apenas da bochecha), a espécie (*C. albicans*) e o género (*Candida sp.*) em cada um dos replicados, a quantidade das colónias em cada placa e por fim, a contabilização dos UFC/pz em cada uma das placas para *C. albicans* e *Candida sp.* As amostras que não aparecem na tabela, são aquelas em que não houve crescimentos.