Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.01, 2025
ISSN 2178-6925

DETECÇÃO E SUSCETIBILIDADE ANTIFÚNGICA DE *CRYPTOCOCCUS SPP.* EM ALGUNS CENTROS PÚBLICOS DO DISTRITO FEDERAL

DETECTION AND ANTIFUNGAL SUSCEPTIBILITY OF *CRYPTOCOCCUS SPP.* IN SOME PUBLIC CENTERS IN THE FEDERAL DISTRICT

Renato Kennedy Souza Araújo
Mestrando em Patologia Molecular – UnB, Universidade de Brasília, Brasil
E-mail: renatok66@gmail.com

Nara Rúbia Souza
Mestre em Saúde Animal, Centro Universitário UniLS, Brasil
E-mail: nara.souza@ls.edu.br

Krain Santos de Melo
Doutorando em Biologia Animal, Centro Universitário de Brasília, Brasil
E-mail: krain1@gmail.com

Vaneza França de Lima
Biomédica esp. em Hematologia, Faculdades IESGO, Brasil
E-mail: vanezafranca@gmail.com

Ana Cláudia Souza
Biomédica esp. em Toxicologia de Alimentos, IESB, Brasil
E-mail: biomed.anac@gmail.com

Hudson Holanda de Andrade

Mestre em Saúde Animal, Centro Universitário UniLS, Brasil
E-mail: hudson.andrade@ls.edu.br

Adriano rios da Silva
Doutorando em Patologia Molecular – UDF Centro Universitário, Brasil
E-mail: adriano.trial@gmail.com

Resumo

A Criptococose é uma doença fúngica causada pela espécie *Cryptococcus neoformans,* essa doença pode acometer vários órgãos, principalmente os pulmões e o sistema nervoso central. A transmissão ocorre pela inalação das leveduras desidratadas dispersos sob a forma de aerossol e o maior reservatório deste fungo são as aves, como os pombos, tornando a doença cosmopolita. O crescente número de pacientes com câncer e o aumento dos casos de AIDS no Brasil tornam essa infecção perigosa, pela dificuldade diagnóstica precoce e/ou agravamento rápido do quadro

infeccioso por conta da imunossupressão. Diante dos expostos, este estudo buscou detectar o *Cryptococcus spp*. em locais públicos com grande fluxo de pessoas e aves, assim como realização do teste de sensibilidade aos antifúngicos. Foram coletadas 50 amostras entre hospitais, rodoviárias e pontos turísticos. Os resultados da análise microbiológica foram: 8 amostras (16%) positivas para o microrganismo. Após análise estatística (Fischer), as evidências encontradas sugerem que a presença do fungo não é uniforme entre os locais coletados, alguns estão mais associados a presença do microrganismo do que outros, demonstrando uma variação na distribuição do *Cryptococcus spp* ambientalmente, sendo necessário mais investigações sobre fatores que influenciam podem a presença ou ausência em diferentes ambientes. Os testes de sensibilidade fúngica demonstraram um alto perfil de resistência a antifúngicos azólicos, como Fluconazol (25mcg) e Itraconazol (10mcg), para Nistatina (100 U.I) e Miconazol (50mcg) as cepas testadas apresentaram um perfil sensível e intermediário após 24 horas de incubação, demonstrando a versatilidade que o microrganismo possui, principalmente em fontes ambientais.

Palavras-chave: *Cryptococcus*; Infecções Fúngicas; Pombos; Saúde Pública; Epidemiologia.

Abstract

Cryptococcosis is a fungal disease caused by the species *Cryptococcus neoformans*, which can affect various organs, especially the lungs and central nervous system. Transmission occurs through the inhalation of dehydrated yeasts dispersed in the form of aerosols and the largest reservoir of this fungus is birds, such as pigeons, making the disease cosmopolitan. The growing number of cancer patients and the increase in AIDS cases in Brazil make this infection dangerous, due to the difficulty in diagnosing it early and/or the rapid worsening of the infection due to immunosuppression. In view of the above, this study sought to detect *Cryptococcus spp*. in public places with a large flow of people and birds, as well as carrying out antifungal sensitivity tests. Fifty samples were collected from hospitals, bus stations and tourist attractions. The results of the microbiological analysis were: 8 samples (16%) positive for the microorganism. After statistical analysis (Fischer), the evidence found suggests that the presence of the fungus is not uniform among the sites collected, some are more associated with the presence of the microorganism than others, demonstrating a variation in the distribution of *Cryptococcus spp* in the environment, requiring further investigation into factors that influence its presence or absence in different environments. The fungal sensitivity tests showed a high resistance profile to azole antifungals, such as Fluconazole (25mcg) and Itraconazole (10mcg), for Nystatin (100 I.U.) and Miconazole (50mcg) the strains tested showed a sensitive and intermediate profile after 24 hours of incubation, demonstrating the versatility that the microorganism has, especially in environmental sources.

Keywords: Cryptococcus; Fungal Infections; Pigeons; Public Health; Epidemiology.

1. Introdução

Cryptococcus pertencente ao filo Basidiomycota, do gênero de fungos filamentosos teleomorfos que se caracterizam por possuírem estrutura encapsulada e estarem dispersos no meio ambiente (FILIÚ *et al*., 2002). Esse gênero fúngico possui cerca de 39 espécies, entretanto a espécie *C. neoformans* é a mais prevalente e de grande interesse médico por se tratar de um possível patógeno

humano. Diversos fatores de virulência relacionado ao hospedeiro entre eles, morfológicos, estruturais e bioquímicos inferem para que este fungo produza a infecção, como a cápsula polissacarídica, produção de melanina, crescimento a 37 ºC e a produção de exoenzimas, contribuindo para a virulência deste microrganismo que pode infectar humanos e e animais domésticos, como gatos e cachorros (DE ANDRADE *et al*., 2017; FREITAS *et al*., 2023).

A Criptococose é uma doença fúngica causada pela espécie *C. neoformans* possuindo duas variantes, o *C. neoformans var. neoformans (C. neoformans)* e o *C. neoformans var. gatti (C. gattii*), que acomete vários órgãos principalmente os pulmões causando pneumonia criptocócica e o sistema nervoso central, causando meningite criptocócica conhecida também como meningoencefalite, Os principais sintomas consistem em febre, náuseas, vômitos, tosse, febre, confusão mental, rigidez na nuca, alterações na visão e fraqueza (BACKES *et al*., 2016).

A Criptococose possuí um diagnóstico difícil e pode ser confundido com outras infecções, após diagnostico o tratamento se torna complexo pela resistência fúngica e pela toxicidade dos antifúngicos que podem causar efeitos adversos nos pacientes que após recuperados podem apresentar sequelas graves pelo dano no sistema nervoso central ou pelo tratamento, que a longo prazo pode gerar depressão, tontura, compressão do nervo óptico, perda da visão, disfunções renais causadas pelo uso prolongado da Anfotericina B, um dos antifúngicos usados no tratamento da Criptococose, incapacitando-os ao retorno de suas atividades habituais (PINHEIRO, 2019).

A variante *C. neoformans* é a espécie com maior relevância médica por causar a forma grave de meningoencefalite e suscetivelmente morte em pacientes com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), leucêmicos, transplantados e pacientes em tratamento de câncer. Por ser um fungo de caráter cosmopolita encontrado nas fezes dos pombos e de fácil transmissão, apresenta um risco elevado para saúde pública (FERNANDRES *et al*., 2000; SILVA *et al*., 2008).

O *C. gattii* tem comportamento endêmico em regiões tropicais e subtropicais, no Brasil principalmente nas regiões Norte e Nordeste e eventualmente as demais regiões brasileiras, sendo capaz de causar a Criptococose em adultos, jovens e crianças sem sinais nenhum de imunodepressão. Diferente do *C. neoformans* o *C.*

gattii foi isolado em cascas de árvores de eucalipto (FILIÚ *et al*., 2002; DARZÉ *et al*., 2000; PESSOA; DA SILVA; GOMES, 2012).

A transmissão do *C. neoformans* se dá pela inalação das leveduras desidratadas facilmente disperso sob a forma de aerossol. Os reservatórios naturais deste fungo são o solo, frutas secas, cereais, cascas e madeira de árvores e preocupantemente nas fezes de aves, tendo seu principal reservatório o pombo comum (*Columba livia*), tornando a doença cosmopolita pela grande quantidade de aves encontradas nas praças, parques, rodoviárias, igrejas e até mesmo em hospitais das cidades brasileiras (FILIÚ *et al*., 2002; FARIA *et al*., 2010; CONTIN *et al*., 2011; MENEZES *et al*., 2014; MEZZARI *et al*., 2015; COLOMBO *et al*., 2015; DE SOUZA; DE SOUZA, 2021).

Ao considerar que a Criptococose é uma doença de grande importância por conta das formas fáceis de transmissão pela grande existência de pombos nos centros urbanos e o crescente número de pacientes com câncer (625 mil novos casos de câncer a cada ano do triênio 2020-2022), ainda o contínuo aumento dos casos de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) no Brasil tornam essa infecção perigosa, seja pela dificuldade de um diagnóstico precoce ou agravamento rápido do quadro infecioso do paciente (De SOUZA; DE SOUZA, 2021; LEITE, 2020). É importante ressaltar que esta infecção fúngica pode acometer pacientes sem HIV/AIDS com uma frequência de 10-30% (PINHEIRO, 2019). A falta do controle populacional dos pombos e por conta das infecções fúngicas sistêmicas não integrarem a lista nacional de doenças de notificação compulsória no Brasil, sendo excluídas de objeto de vigilância epidemiológica (DE QUEIROZ, 2008).

Diante dos expostos, este estudo procurou detectar o *Cryptococcus spp*. em rodoviárias, imediações de hospitais e pontos turísticos que possuem grande fluxo de pessoas e de aves, assim como os testes antifúngicos com drogas usadas na prática clínica.

2. Metodologia

Este é um estudo do tipo transversal realizado nas rodoviárias do Distrito Federal, Brasília, onde possuí a rodoviária interestadual, uma Rodoviária principal

da capital (Rodoviária do Plano Piloto), rodoviária de Taguatinga e Rodoviária do Gama, e outros segmentos rodoviários menores como terminais, além de hospitais e pontos turísticos com grande quantidade de aves (Figura 1).

Figura 1. Locais de coleta



Fonte: Adaptado do Google Maps pelos autores, Mapa do Distrito Federal, 2024.

Foram coletadas 50 amostras (cinco por local) raspadas com espátula de fezes secas e envelhecidas de pombos sempre utilizando Equipamento de proteção individual e posteriormente acondicionadas em frascos plásticos estéreis por até 24 horas em temperatura ambiente e encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário LS Educacional.

Seguindo métodos adotados por Reolon, Perez e Mezzari (2004), as amostras foram processadas em câmara de fluxo laminar (classe 2-B1), maceradas em gral com pistilo devidamente esterilizados, onde cerca de 1gr do material resultante foi suspenso em 5 ml de solução fisiológica estéril e agitado em vórtex por cinco minutos. Posteriormente disposto em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente.

O sobrenadante foi aspirado e semeado em placa de Petri com Ágar Sabouraud Dextrose Cloranfenicol (KASVI®), as placas foram incubadas seguindo protocolo do Contin *et al*. (2011) a uma temperatura de 30ºC e observadas diariamente até sete dias, sendo que as leituras foram realizadas a partir do segundo dia, onde as colônias de aspecto lisa, brilhante, úmida, de cor branca,

creme e bege foram repicadas em nova placa e incubadas à 30Cº por um período de 48 horas. Os fungos crescidos em Ágar Sabouraud Dextrose Cloranfenicol (ASD) foram submetidos ao Testes da Tinta Nanquim ou Tinta da China. Após a coloração com tinta da china, os fungos foram examinados ao microscópio óptico para identificação da cápsula polissacarídica que é indicativo de *C. neoformans*, sendo características leveduras com morfologia regular, encapsuladas, globosas, arredondadas, unibrotantes ou multibrotantes e sem hifas ou pseudo-hifas.

Após o Teste da Tinta Nanquim foi realizado a prova da Uréase (Triptona 1,0 g/L; Uréia 20,0 g/L). Com o auxílio de uma alça de semeadura, foi transferido um inóculo da colônia para o tubo contendo meio de ureia. Após esse processo o meio foi incubado em banho maria a 37° C por um período de 24 horas. De acordo com Reolon, Perez e Mezzari (2004) o *Cryptococcus* hidrolisa a uréia por meio de uma metaloenzima, resultando em amônia e carbamato, alterando o pH do meio e sua cor, assim o teste será considerado positivo quando a cor do meio for modificada para rosa ou vermelho nas primeiras 6 horas de incubação. Na ausência de alteração da cor, o teste será considerado negativo, testes que confirmarão presença ou ausência. Após identificação, os fungos foram repicados novamente para placa de ASD a fim de purificação da amostra para conservação das cepas para análise antifúngica.

A fim de manter pureza das amostras, as cepas foram conservadas pelo método de conservação em água destilada estéril, método onde tiveram sucesso na viabilidade dos fungos do gênero *Cryptococcus spp*. nos estudos de De Paula Costa, Mota e Cardoso (2020), método adaptado a realidade de nossa pesquisa. Foram autoclavados 200 mL de água destilada e depois transferidos 1 mL para cada criotubo (Três tubos por cepa), para cada criotubo com 1 mL de água destilada, 0,5 por 0,5 mm2 de culturas fúngicas cultivadas no ASD, onde serão acondicionados em caixas de policarbonato por um período de até 180 dias.

Os testes foram realizados para avaliar a atividade dos antifúngicos habituais usados na prática clínica, sendo eles Fluconazol (Cecon), Itraconazol (Cecon), Nistatina (Cecon), Cetoconazol (Cecon) e Miconazol (Cecon) (Subcomitê BRCast, 2020). Os isolados foram suspensos em 5mL de salina estéril para preparo de turbidez de acordo com a escala 0,5 de McFarland sendo confirmado e ajustado

em espectrofotômetro com comprimento de onda de 530 nm e densidade óptica de 0,284 que corresponde a uma suspensão contendo 106 células/mL, após inoculação com swab estéril descartável os discos foram distribuídos em placa de petri contendo ágar Mueller-Hinton modificado com 2% de glicose e incubadas de 35 ºC por 24 horas e releituras após 48 horas, sendo interpretado os resultados de acordo com os documentos M44-A do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).

3. Resultados e Discussão

Após coleta e processamento das amostras, os resultados foram descritos no quadro abaixo (quadro 1):

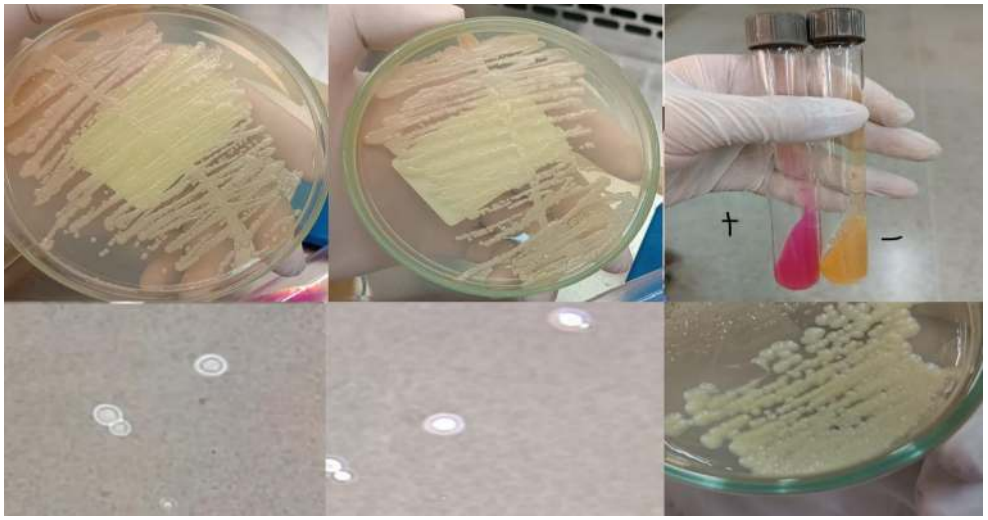
Quadro 1. Amostras processadas, testes e presença do microrganismo

Local e número de amostras	**Nº de amostras**	**Amostras positivas (Figura 2)**	**Exame direto com tinta da China**	**Teste de Urease**
Hospital de Santa Maria	N= 5.	1	Positivo	Negativa
Hospital do Gama	N= 5.	N/A	N/A	N/A
Hospital Regional de Taguatinga	N= 5.	2	Positivo	Positiva
Hospital Regional da Asa Norte (HRAN)	N= 5.	N/A	N/A	N/A
Hospital Regional de Ceilândia	N= 5.	1	Positivo	Positiva
Rodoviária do Gama	N= 5.	1	Positivo	Positiva
Rodoviária de Taguatinga	N= 5.	N/A	N/A	N/A
Rodoviária Interestadual de Brasília	N= 5.	2	Positivo	Positiva
Rodoviária do Plano Piloto	N= 5.	1	Positivo	Positiva
Praça dos Três Poderes	N= 5.	N/A	N/A	N/A
TOTAL	**50**	**8 positivas (16%) e 42 negativas (84%)**		

Fonte: Autores, 2024. N/A= não se aplica.

Figura 2. Aspectos macroscópicos, microscópicos e Bioquímicos de algumas cepas.
Fonte: Autores, 2024. Presença de cápsula em microscopia com tinta nanquin e teste de Urease +.

Com base na análise estatística (Software R®) realizada usando o teste



exato de Fisher, encontramos evidências significativas de associação entre a presença do microrganismo e os diferentes locais amostrados (p-valor=0.04106). A rejeição da hipótese nula sugere que a distribuição da presença do microrganismo não é uniforme entre os locais. O intervalo de confiança para a razão de chances (*odds ratio*) de 1.015 a 55.143, com uma estimativa pontual de 5.443, respalda a conclusão de que alguns locais estão mais associados à presença do microrganismo do que outros. Esses resultados indicam a importância de considerar a variação na distribuição do microrganismo ao avaliar aspectos epidemiológicos, destacando a necessidade de investigações adicionais para compreender os fatores que influenciam a presença do microrganismo em diferentes ambientes.

Outros fungos foram encontrados nas excretas dos pombos em diversas amostras, foram identificadas uma variedade de Candidas, incluindo a C.*albicans, C. glabrata e C. parapsilosis*. entre outros como, *Penicillium spp., Aspergillus spp., Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Aspergillus terreus, Rhodotorula spp., Cladosporium spp.*

Após 24 e 48 horas de incubação com os antifúngicos, foram realizadas a interpretação e leitura dos halos de inibição (Tabela 1 e figura 3) em quatro cepas

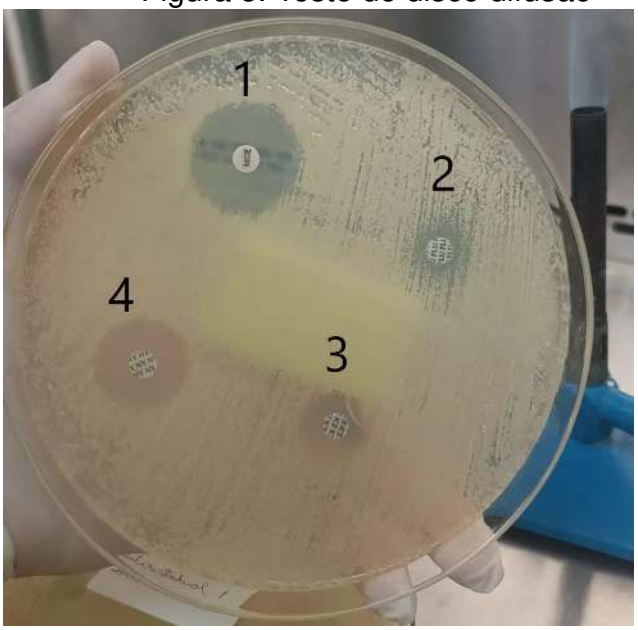
purificadas dos isolados, sendo identificados como cepa 1, cepa 2, cepa 3 e cepa 4. A tabela 1 apresenta os testes de discos de difusão frente ao microrganismo utilizando concentrações de 100 U.I para cada disco de Nistatina, 50 mcg para cada disco de Miconazol, 25mcg para cada disco de Fluconazol e 10mcg para cada disco de Itraconazol.

Tabela 1. Teste de disco difusão em cepas de *Cryptococcus spp.*

Cepa	**Droga antifúngica**	**Zona de inibição (mm) em 24 horas**	**Zona de inibição (mm) em 48 horas**
Cepa 1	Fluconazol 25 mcg	10 mm = **R**	0 mm = **R**
	Miconazol 50 mcg	23 mm = **S**	21 mm = **S**
	Nistatina 100 U.I	18 mm = **S**	10 mm = **S**
	Itraconazol 10 mcg	14 mm = **I**	10 mm = **R**
Cepa 2	Fluconazol 25 mcg	11 mm = **R**	0 mm = **R**
	Miconazol 50 mcg	24 mm = **S**	24 mm = **S**
	Nistatina 100 U.I	20 mm = **S**	13 mm = **S**
	Itraconazol 10 mcg	12 mm = **I**	11 mm = **R**
Cepa 3	Fluconazol 25mcg	0 mm = **R**	0 mm = **R**
	Miconazol 50 mcg	19 mm = **I**	19 mm = **I**
	Nistatina 100 U.I	17 mm = **S**	11 mm = **S**
	Itraconazol 10mcg	0 mm = **R**	0 mm = **R**
Cepa 4	Fluconazol 25 mcg	0 mm = **R**	0 mm = **R**
	Miconazol 50 mcg	13 mm = **I**	22 mm = **S**
	Nistatina 100 U.I	12 mm = **S**	13 mm = **S**
	Itraconazol 10 mcg	0 mm = **R**	10 mm = **R**

R = Resistente, **I =** Intermediário, **S =** Sensível**.** De acordo CLSI M44-Ed3.

Figura 3. Teste de disco difusão



Fonte: Autores, 2024. 1 – Miconazol, 2 – Fluconazol, 3 – Itraconazol, 4 - Nistatina

Dentro de um perfil epidemiológico de rastreio do microrganismo no Distrito Federal, Marsílio, De Sousa e Dos Santos Castro (2018) identificaram apenas uma amostra positiva para *Cryptococcus albidus* das 20 coletadas.

Araújo *et al*. (2020) também fizeram o rastreio de leveduras patogênicas no Distrito Federal, especialmente em hospitais como na presente pesquisa, sendo coletadas 8 amostras, onde 100% das amostras analisadas apresentaram crescimento de leveduras do gênero *Candida sp*. e *Rhodotorula sp.* Igualmente encontradas em 100% das amostras desta presente pesquisa. No meio Ágar Cromogênico foram identificadas nas amostras *C. krusei* em 75%; *C. tropicalis* em 50% e *C. glabrata* em 15%. Em 15% das amostras foi identificado leveduras do gênero *Cryptococcus sp*. No Distrito Federal os dados sobre rastreio do microrganismo como o presente estudo são escassos. No estado vizinho, Goiás, Ferreira e Cardoso (2018) buscaram propágulos do fungo patogênico em espaços públicos com grande movimentação de transeuntes, sendo coletados 60 amostras em praças públicas e em um hospital, obtendo positividade em 6 amostras (10%) para *Cryptococcus spp*.

Mezzari *et al*. (2015) buscaram a presença do fungo em excretas de pombos nos arredores de hospitais em Porto Alegre, totalizando 168 amostras, onde obteve positividade em 11 amostras (6,54%). Ainda no Sul do Brasil, Lima, Klafke e Xavier (2016) pesquisaram a ocorrência em arredores do hospital referência em tratamento de pacientes com HIV, durante 10 meses coletaram 40 amostras, positivando 13 (32,5%) para o *Cryptococcus spp*.

Corrêa (2019) buscou o fungo em unidades escolares e postos de saúde em um município de Porto Velho – RO, os resultados revelaram a presença do *C. neoformans* em 01 (16%) dos pontos, da *Candida sp*. em 4 (66%) dos 06 (100%) pontos coletados. Além destes, foram identificados fungos filamentosos como *Penicillium sp*; *Rhizopus sp*. e *Aspergillus sp*. Santos *et al*. (2019) buscaram investigar a ocorrência de *Cryptococcus neoformans* nas excretas de pombos em locais públicos da cidade de Guaraí/TO, 62,5% das amostras coletadas

apresentaram resultados positivos. Sendo o ponto de coleta 1 (hotel) o mais preocupante por apresentar *C. neoformans* em todas as amostras coletadas.

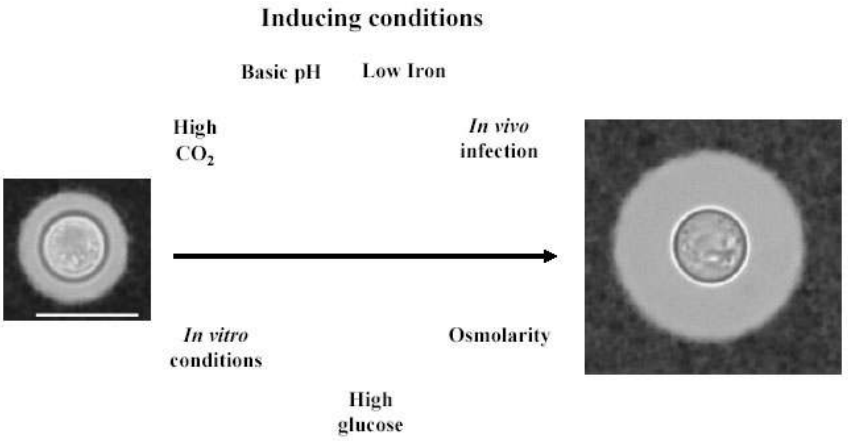
Em nossa pesquisa, constatou-se que em todas as amostras analisadas ocorreu a presença de *Candida spp*., que é o agente causador da candidíase. *Candida* é uma das principais leveduras de relevância médica, sendo que, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a *C. albicans* está classificada como parte do grupo crítico de patógenos fúngicos emergentes em infecções invasivas (ARAÚJO *et al*., 2023). As espécies de *Candida* ocupam a quinta posição entre os patógenos adquiridos em ambientes hospitalares e a quarta posição nas infecções de corrente sanguínea. Além disso, as leveduras estão desenvolvendo resistência aos antifúngicos comumente utilizados na prática clínica. Portanto, o tratamento da candidíase está se tornando um desafio, especialmente em pacientes com imunodeficiência.

Freitas (2022) realizou um estudo epidemiológico sobre quadros infeciosos por fungos do gênero *Cryptococcus spp*. no Distrito Federal durante os períodos de janeiro de 2014 a 31 de dezembro de 2019, sendo avaliados 100 pacientes, com predominância do sexo masculino (70%) e adultos jovens (19 a 40 anos). Os 100 pacientes apresentaram Criptococose em 89% dos casos no SNC; 5% pulmonar; 3% cutâneo; 3% sanguínea. E 66% eram HIV positivos, apresentando uma letalidade de 38,7%, dados iguais aos de Alves-Soares et al. (2019) que mensuraram a letalidade no Brasil, tendo uma variação de 30 a 63%, sendo impulsionados pela associação com aids, os autores também evidenciam o fato de a Criptococose não ser uma doença de notificação obrigatória no Basil, possuindo então uma mortalidade real desconhecida, tendo dados entre 2000 e 2012 de 4314 óbitos.

Uma das amostras positivas neste estudo, isoladas o Hospital de Santa Maria, demonstrou urease negativa no teste bioquímico, em situações normais do organismo, essa resposta pode levar a um aumento no pH e tem sido identificada como um fator significativo de patogenicidade. Embora existam relatos isolados de casos em que cepas de *C. neoformans*, que não produzem uréase, foram responsáveis por infecções humanas, porém a maioria dos isolados clínicos apresenta uma produção substancial de uréase (EMMONS *et al*., 1955).

É possível observar que 100% das amostras positivas apresentaram cápsula pequena, fato que Zaragoza e Casadevall (2004) elucidaram, demonstrando que nos isolados ambientais, principalmente de excretas de aves o tamanho da cápsula é pequeno. Durante as condições de crescimento *in vitro* nos meios Sabouraud, o tamanho da cápsula se mantém pequeno. Fato que contrasta com a situação encontrada durante uma infecção em que as células com cápsulas muito grandes são normalmente encontradas nos tecidos. Quando as células infectam o hospedeiro, verifica-se um rápido aumento do tamanho da cápsula, sendo um dos fatores de virulência do patógeno. Esta observação sugere a importância das condições ambientais na determinação do tamanho da cápsula criptocócica (figura 4).

Figura 4. Esquema dos fatores que influenciam o tamanho da cápsula em *C. neoformans.*



Fonte: Zaragoza; Cacadevall, pág. 2, 2004.

A cápsula intensifica a infecção ao reduzir a inflamação, impedindo a fagocitose e suprimindo tanto a resposta imune humoral quanto celular segundo Zaragoza e Casadevall (2004), estudos recentes em animais sugerem que o *C. neoformans* é um patógeno intracelular facultativo. Para sobreviver dentro dos macrófagos, o fungo emprega uma nova estratégia de parasitismo intracelular, que envolve o armazenamento de polissacarídeos em vesículas citoplasmáticas,

seguido por danos na membrana do fagossomo. A confirmação desses mecanismos poderia abrir novas perspectivas em várias áreas mal compreendidas da patogênese criptococócica, incluindo os processos de latência, persistência e a ineficácia da resposta imune humoral.

Mezzari *et al*. (2015) utilizaram E-test para realização do antifungigrama, onde duas amostras demonstraram resistência a todos os antifúngicos azólicos testados, como o Miconazol, Fluconazol e Itraconazol, todas as amostras testadas no estudo mostraram CIM superior a 32 µg/ml para o Itraconazol, indicando resistência a esse antifúngico específico. Comparado com nossos achados, todas as 4 cepas apresentaram resistência ao Itraconazol, e Fluconazol em 24 horas e 48 horas de incubação, em relação ao Miconazol houve uma variância, onde as cepas 1 e 2 demonstraram sensibilidade, a cepa 3, sensibilidade intermediária e a cepa 4, sensibilidade intermediária em 24 horas e sensibilidade em 48 horas.

Nos estudos de Corrêa et al. (2019), as colônias foram testadas com uso do Kit Fungifast da Elitech Microbio, onde evidenciaram resistências a Itraconazol 0,125 e 0,5µg/ml e Fluconazol 8 e 32µg/ml após 72 horas de teste, porém sensibilidade a Anfotericina B 2µg/ml. Na pesquisa clínica com dois isolados de pacientes com meningite, Veiga *et al*. (2020) testaram por disco difusão Anfotericina B (100 µg), Cetoconazol (50 µg), Itraconazol (100 µg), Voriconazol (1 µg), Miconazol (50 µg), onde as duas cepas apresentaram sensibilidade a todos os antifúngicos testados.

A resistência de cepas desta levedura a alguns tipos de antifúngicos *in vitro* é pouco frequente, Silva *et al*. (2008) analisaram isolados de 35 pacientes do Hospital Escola da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, onde foi observada a presença de 2 isolados resistentes ao Itraconazol e 2 isolados resistentes à Anfotericina B.

A administração prolongada de Fluconazol no tratamento da criptococose tem sido apontada como um dos fatores contribuintes para o surgimento de cepas resistentes a esse antifúngico. Nesse cenário, o Itraconazol surge como uma alternativa promissora ao Fluconazol, considerando a alta suscetibilidade in vitro de isolados de *C. neoformans* a esse antifúngico, conforme descrito em estudos anteriores. Esses resultados indicam a necessidade de uma avaliação cuidadosa

ao considerar o uso alternativo do Itraconazol em substituição ao Fluconazol, uma vez que, embora a atividade *in vitro* do Fluconazol seja limitada em alguns estudos, acredita-se que *in vivo* este antifúngico possa alcançar níveis plasmáticos mais elevados do que o Itraconazol (MORAES; PRIMOLA; HAMDAM, 2003; FERNANDES *et al*., 2003).

Diante destes fatos, mais estudos são necessários, pois as cepas encontras no nosso estudo apresentaram um perfil de resistência a Fluconazol e Itraconazol, sendo necessários estudos de microdiluição em diferentes concentrações para avaliação de resistência ou sensibilidade de cepas ambientais encontradas no Distrito Federal, ressaltando que no período de realização do estudo, o antifúngico Anfotericina B estava em falta nos distribuidores disponíveis, este que o indicado para tratamento sistêmico da infecção fúngica.

5. Conclusão

A criptococose, uma doença fúngica causada por *C. neoformans* e *C. gattii*, representa um desafio significativo devido à sua difícil detecção e tratamento complexo. As variantes do fungo, especialmente *C. neoformans*, são responsáveis por casos graves de meningoencefalite, sendo particularmente letais em pacientes imunossuprimidos, como aqueles com AIDS, leucemia, transplantes ou câncer. A transmissão ocorre principalmente pela inalação de leveduras desidratadas presentes em aerossóis, sendo os pombos um reservatório importante. A pesquisa realizada nas rodoviárias e nos arredores de hospitais do Distrito Federal revelou a presença do microrganismo, destacando a variabilidade na distribuição nos diferentes locais pesquisados.

Além do *Cryptococcus*, a presença de *Candida spp*. e outras leveduras, como *Rhodotorula spp*. e alguns fungos filamentosos de importância clínica, principalmente em infecções em pacientes imunossuprimidos, presentes nas amostras de excretas de pombos também foi identificada, ressaltando a importância de monitorar esses microrganismos em ambientes urbanos. A pesquisa

destacou a falta de controle populacional de pombos e a ausência da criptococose na lista nacional de doenças de notificação compulsória no Brasil.

O estudo também abordou a resistência fúngica onde observou-se um alto perfil de resistência a antifúngicos azólicos, como Fluconazol e Itraconazol, em cepas isoladas. Na prática clínica, a administração prolongada desses antifúngicos pode levar ao surgimento de cepas resistentes, indicando a necessidade de avaliações cuidadosas e alternativas terapêuticas.

Em suma, a criptococose é uma preocupação crescente, especialmente diante do aumento de casos de câncer e da persistência da AIDS. O estudo ressalta a importância de pesquisas adicionais para compreender os fatores que influenciam a presença do microrganismo em diferentes ambientes e destaca a necessidade de medidas de controle para proteger a saúde pública.

Diante das complexidades identificadas na pesquisa sobre a criptococose e sua associação com a presença de pombos em ambientes urbanos, torna-se evidente a necessidade de mais investigações. Estudos futuros aprofundando a compreensão dos fatores que contribuem para a disseminação do microrganismo, medidas de controle populacional de pombos. O engajamento contínuo em pesquisas e a implementação de medidas de vigilância são essenciais para enfrentar os desafios apresentados por essa infecção fúngica, contribuindo assim para a promoção da saúde pública.

Referências

ALVES-SOARES, Emmanuel et al. Mortality by cryptococcosis in Brazil from 2000 to 2012: A descriptive epidemiological study. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 7, p. e0007569, 2019.

ARAÚJO, Caroline et al. Rastreio de leveduras patogênicas isoladas de fezes de pombos no Distrito Federal-Pombos: propagadores de fungos patogênicos?. **REVISA: Revista de Divulgação Científica Sena Aires**, v. 9, n. 4, p. 823-33, out./dez. 2020. DOI: https://doi.org/10.36239/revisa.v9.n4.p823a833.

ARAÚJO, Renato Kennedy Souza et al. Risco emergente das infecções fúngicas nvasivas : Revisão da literatura. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 9, n. 8, p. 1111-1125, 2023.

BACKES, Patrícia et al. Diagnóstico laboratorial de Cryptococcus sp. no líquor. **RBAC**, v. 48, p. 10-14, 2016.

CLSI, author. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts. **3rd ed. (M44-Ed3) Clinical and Laboratory Standards Institute**; Wayne, PA: 2018

COLOMBO, G. et al. Caracterização bioquímica e molecular de Cryptococcus spp. isolados de excretas ambientais de pombos (Columba livia domestica). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 1639-1645, 2015.

CONTIN, Joelma Teixeira et al. Ocorrência de Cryptococcus neoformans em fezes de pombos na cidade de Caratinga, MG–Brasil. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 21, n. 1, p. 19-24, 2011.

CORRÊA, E. de A. Identificação, resistência e sensibilidade de cepas de Cryptococcus neoformans e de Candidas sp., presentes em excretas de pombos no município de Porto Velho-RO . **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological** , [S. l.], v. 6, n. 1, 2019.

DARZÉ, Calil et al. Clinical and laboratory characteristics of 104 cryptococcus meningoencephalitis cases. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 1, 2000.

DE ANDRADE, Ikaro Alves et al. Aspectos Morfofuncionais e Laboratoriais de Cryptococcus sp. Evidenciados na Criptococose. **Revista de Patologia do Tocantins**, v. 4, n. 4, p. 34-43, 2017.

DE QUEIROZ, João Paulo Araújo Fernandes. Criptococose-uma revisão bibliográfica. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 2, p. 32-38, 2008.

DE PAULA COSTA, Larissa; MOTA, Matheus Entony Bernardo; CARDOSO, Alessandra Marques. Experimentação de diferentes métodos para conservação de coletâneas fúngicas. **REVISTA BRASILEIRA MILITAR DE CIÊNCIAS**, v. 6, n. 16, 2020.

DE SOUZA, Rodrigo Gutierrez; DE SOUZA, Camila Maciel. Incidência de Cryptococcus Neoformans em fezes de pombos (Columba Livia) na área central da cidade de Porto Velho, RO. **Saber Científico (1982-792X)**, v. 7, n. 1, p. 13-22, 2021.

EMMONS, Chester W. et al. Saprophytic Sources of Gryptococcus neoformans associated with the Pigeon (Columba livia). **American Journal of Hygiene**, v. 62, n. 3, p. 227-32, 1955.

FARIA, Renata Osório de et al. Ocorrência de Cryptococcus neoformans em excretas de pombos na cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 198-200, 2010.

FERREIRA, Inara Silva; Cardoso, Alessandra Marques. Research for Cryptococcus spp. in pigeon's feces newly issued collected in public spaces of Goiânia-GO. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. 2018.

FERNANDES, Orionalda de FL et al. Cryptococcus neoformans isolados de pacientes com AIDS. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 75-78, 2000.

FERNANDES, Orionalda de FL et al. In vitro susceptibility characteristics of Cryptococcus neoformans varieties from AIDS patients in Goiania, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 839-841, 2003.

FILIÚ, Wander Fernando de Oliveira et al. Cativeiro de aves como fonte de Cryptococcus neoformans na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p. 591-595, 2002.

FREITAS, Débora Neves et al. Caracterização das alterações ultrassonográficas da cavidade torácica de cão com Criptococose–relato de caso. **Brazilian Journal of Development**, v. 9, n. 12, p. 31568-31580, 2023. DOI: 10.34117/bjdv9n12-067. Disponível em: https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/65802.

FREITAS, Waleriano Ferreira de. Epidemiologia e manejo da criptococose no Distrito Federal, Brasil. 2022. 152 f., il. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) — **Universidade de Brasília**, Brasília, 2022.

LEITE, Daniela Soares. A AIDS no Brasil: mudanças no perfil da epidemia e perspectivas. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 57382-57395, 2020.

LIMA, Cristiane Tavares de; KLAFKE, Gabriel Baracy; XAVIER, Melissa Orzechowski. **Cryptococcus spp. in excreta of Columba livia (domestic pigeons) from a university hospital in southern Brazil**. 2016.

MARSILIO, Julio Cezar; DE SOUSA, Jeannie Yokoyama; DOS SANTOS CASTRO, Fabíola Fernandes. Prevalência de Cryptococcus neoformans e gattii em fontes ambientais da comunidade em Brasília, Distrito Federal. **Programa de Iniciação Científica-PIC/UniCEUB-Relatórios de Pesquisa**, v. 4, n. 1, 2018.

MENEZES, Thaianna et al. Cryptococcus spp. em excretas de pombos (Columba livia) de áreas públicas de Lages, Santa Catarina. **Science and Animal health**, v. 2, n. 2, p. 102-114, 2014.

MEZZARI, Adelina et al. Presença e susceptibilidade aos antifúngicos do Cryptococcus spp. em excretas de pombos nos arredores dos grandes hospitais de Porto Alegre. **Revista da AMRIGS**, v. 59, n. 3, p. 204-208, 2015.

MORAES, E. M. P.; PRIMOLA, N. S.; HAMDAN, Junia Soares. Antifungal susceptibility of clinical and environmental isolates of Cryptococcus neoformans to four antifungal drugs determined by two techniques. **Mycoses**, v. 46, n. 5-6, p. 164-168, 2003.

PESSOA, Cláudia Cristina Brito; DA SILVA, Silvia Helena Marques; GOMES, Fabíola Silveira. Produção de fatores de virulência in vitro por isolados de Cryptococcus neoformans e Cryptococcus gattii de origem clínica em Belém, Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 2, p. 7-7, 2012.

PINHEIRO, Silviane Bezerra. Aspectos clínicos e moleculares da criptococose em pacientes não HIV no estado do Amazonas, Brasil. 2019. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - **Universidade Federal do Amazonas**, Manaus, 2019.

REOLON, Aline; PEREZ, Leandro Reus Rodrigues; MEZZARI, Adelina. Prevalence of Cryptococcus neoformans in urban pigeons of Porto Alegre (RS), Brazil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, p. 293-298, 2004.

SANTOS, Mateus Silva et al. Ocorrência de cryptococcus neoformans em excretas dos pombos da cidade de Guaraí/TO. **Health of Humans**, v. 1, n. 2, p. 1-7, 2019.

SILVA, Paulo Roberto da et al. Suscetibilidade a antifúngicos de variedades de Cryptococcus neoformans isoladas de pacientes em hospital universitário. Revista da **Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 158-162, 2008.

VEIGA, Flávia Franco et al. FATORES DE VIRULÊNCIA E SUSCEPTIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS DE Cryptococcus spp. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 24, n. 1, 2020.

ZARAGOZA, Oscar; CASADEVALL, Arturo. Experimental modulation of capsule size in Cryptococcus neoformans. **Biological procedures online**, v. 6, p. 10-15, 2004.