

***Cryptococcus neoformans* em Ninhos de Pombos, Poeira e Secreção Nasal de Cães e Gatos na Cidade do Rio de Janeiro, Brasil**

Flávio Gimenis Fernandes

Antonio Neres Norberg

Fabiano Guerra Sanches

José Tadeu Madeira de Oliveira

Oscarino dos Santos Barreto Junior

Nicolau Maués Serra-Freire

RESUMO

Com o objetivo de pesquisar e mostrar a importância da presença de pombos, seus ninhos e excretas como fonte de infecção pelo fungo agente etiológico da criptococose, foram investigados a presença de *Cryptococcus neoformans* em ninhos de pombos (*Columba livia*), poeira e secreções nasais de cães e gatos, numa região da cidade do Rio de Janeiro que apresenta alto índice populacional de pombos, cães, gatos e humanos compartilhando o mesmo ambiente. Para a realização da pesquisa foram coletadas 150 amostras: 40 do conteúdo de ninhos de pombos, 30 de secreção nasal de cães (*Canis familiaris*), 30 de secreção nasal de gatos (*Felis domesticus*) e 50 de poeira. O material coletado foi semeado em meio de cultura agar Niger e incubado em temperatura ambiente ($\pm 30^{\circ}\text{C}$). O crescimento fúngico foi identificado por caracteres morfológicos, culturais e provas bioquímicas pelo sistema BioMerriex Vitek. O resultado mostrou que 30 dentre 150 amostras examinadas estavam contaminadas com *C. neoformans*, sendo 12 (30%) para ninhos, uma (3,3%) para secreção nasal de cão, duas (6,6%) para secreção nasal de gatos e 15 (30%) amostras de poeira. Este trabalho teve como objetivo pesquisar e mostrar a importância da presença de pombos, seus ninhos e excretas como fonte de infecção pelo fungo agente etiológico da criptococose. É sugerida a importância de se empreender a limpeza dos locais onde haja acumulação de excretas de pombos como medida profilática.

Palavras-chave: *Cryptococcus neoformans*, excretas de pombos, fungos.

1. INTRODUÇÃO

Criptococose é uma doença fúngica capaz de acometer, além de seres humanos, várias espécies animais. Seu agente etiológico, *Cryptococcus neoformans*, é um fungo leveduriforme, capsulado e de ampla distribuição geográfica. Contudo, outras espécies do gênero podem estar envolvidas nas infecções, embora com rara frequência¹. A espécie *C. neoformans* possui três variedades: *C. neoformans* variedade *neoformans*, *C. neoformans* variedade *gattii* e *C. neoformans* variedade *grubii*; e cinco sorotipos: A, B, C, D, AD.^{1,2}

Até a década de 1960, a criptococose ocorria de forma esporádica em seres humanos e animais. Os casos confirmados da doença aumentaram progressivamente com o advento de terapias imunossupressoras, registrando-se o acometimento de órgãos como a pele, pulmões e o Sistema Nervoso Central (SNC)³. Na década de 1980, com o surgimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), houve um aumento na frequência de casos, sendo atualmente considerado o fator predisponente de maior importância epidemiológica. Este fato foi destacado por diferentes autores. Batista *et al.*⁴, registraram sua ocorrência entre 7% e 8% dos pacientes com SIDA investigados nos Estados Unidos da América, Europa e América do Sul, e em até 35% destes pacientes na África. O destaque fica por conta da maior prevalência observada no continente africano, onde os autores discutem a probabilidade deste ser um reflexo de uma maior exposição ao fungo em questão, sem estabelecer qualquer associação da sua incidência com a ocupação ou etnia dos pacientes. Já no Brasil, segundo os mesmos autores, o problema ocorreria em 10% destes pacientes, sendo a meningite o quadro clínico mais frequente (5%); atualmente, sua manifestação em nível de SNC levanta a suspeita de SIDA.

Estudos epidemiológicos realizados antes do advento da SIDA mostravam uma ampla distribuição geográfica da variedade *neoformans*, enquanto a variedade *gattii* estava restrita às regiões tropicais e subtropicais. Com o surgimento da SIDA, a percentagem de casos da variedade *gattii* diminuiu, fato explicado, segundo autores como Batista *et al.*⁴, Fisher e Cook⁵, pela maior frequência de infecção registrada para a variedade *neoformans*. Entretanto, com a proximidade cada vez maior do ambiente silvestre, tanto para fins exploratórios quanto para fixação de moradia, foram relatados novos registros da variedade *gattii*^{4,5}.

Os estudos de Montenegro e Paula⁶ mostraram que áreas de parques ecológicos urbanos se tornaram nichos ecológicos de *C. neoformans* para as variedades *neoformans* e *gattii*, demonstrando sua presença como contaminantes em diversas espécies de árvores. A relação existente entre estas áreas e as aves já é conhecida, e os registros sobre a necessidade da utilização da creatina no crescimento de microrganismos também. Pelo fato de ser esta uma substância encontrada com grande facilidade nas fezes dos pombos e de registrar-se no Brasil uma alta densidade destas aves, fica a indicação do favorecimento da disseminação do agente, fato que nos levou ao desenvolvimento desta pesquisa, com objetivo de pesquisar *C. neoformans* em ninhos de pombos e estabelecer correlação estatística dos resultados com a presença do agente na secreção nasal de cães, gatos e a poeira, presentes na área estudada.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O material biológico foi coletado no bairro de Ricardo de Albuquerque, na cidade do Rio de Janeiro numa região com conglomerado espacial de grande densidade populacional de pombos, compartilhando esse ambiente com cães, gatos e humanos. Foram amostrados os conteúdos de ninhos de pombos, secreção nasal de cães, gatos e de poeira de áreas circunvizinhas ao local. Estudou-se o conteúdo de 40 ninhos em locais diferentes, onde coletou-se aproximadamente 10 gramas do material, os quais foram acondicionados individualmente em frascos de plástico estéreis. Para o estudo da poeira, foram amostrados 50 locais diferentes, que apresentavam vestígios de fezes de pombos. Nesses locais, 50 placas de Petri contendo meio de cultura agar Niger foram mantidas abertas e expostas durante dois minutos à poeira levantada artificialmente. As placas foram fechadas e lacradas com fita adesiva.

Em relação aos animais, 30 amostras de secreção nasal de cães e 30 de gatos foram coletadas com auxílio de suabes estéreis. Após a coleta o material foi examinado no laboratório de micologia do Instituto de Biologia do Exército. Aproximadamente dois gramas do conteúdo de ninhos foram transferidos para tubos de ensaios com tampa rosqueável que continham pérolas de vidro e cinco mililitros de solução salina estéril. Após homogeneização, uma amostra do sobrenadante foi semeada em agar Niger⁶.

As amostras de secreção nasal de cães e gatos foram semeadas diretamente em agar Niger. Todas as placas foram vedadas com fita adesiva e mantidas em temperatura ($\pm 30^{\circ}\text{C}$). A identificação e confirmação do *C. neoformans* foi realizada por caracteres culturais, morfológicos e provas bioquímicas (sistema BioMerieux Vitek).

3. RESULTADOS

Das 150 amostras examinadas, 30 estavam contaminadas com *Cryptococcus neoformans*, sendo 12 (30%) para amostras de ninhos, uma (3,3%) de cão, duas (6,6%) de gato e 15 (30%) de poeira (Tab. 1). Os resultados confirmaram a presença de colônias viscosas com pigmento marrom devida à produção de fenoloxidase em meio de cultura agar Niger. A microscopia pela técnica da tinta Nankin revelou a presença de leveduras capsuladas, cujas colônias foram confirmadas bioquimicamente pelo sistema BioMerieux Vitek. As análises comparativas também demonstraram que tanto o material de ninhos quanto a poeira ao redor desse ambiente mantém o agente no perímetro ($p < 0,05$), situação que, segundo a análise de Qui-quadrado e de Mantel-Haenszel, tem uma forte correlação com a ocorrência do fungo em cães e gatos ($p < 0,05$).

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

De acordo com Veronesi & Focaccia⁷, a infecção humana por *Cryptococcus neoformans* ocorre por inalação devido ao tamanho das partículas infecciosas e a possibilidade de suportar dessecação, o que possibilita a transmissão via aerógena. Esse risco pode ser facilmente demonstrado pelo resultado positivo em 30% das amostras examinadas com isolamento desse microrganismo na poeira, corroborando assim com a afirmação desses autores, pois nossa pesquisa revelou resultado positivo em 30% das amostras examinadas. Por ocasião da coleta do material para a nossa pesquisa, observamos excrementos de pombos em praticamente todo o ambiente pesquisado, indicativo de que a limpeza diária não os remove facilmente. Estas observações sugerem que ao varrer esses locais, conídios serão facilmente dispersos com a poeira, corroborando assim as afirmações de Lacaz *et al.*¹ e Brooks *et*

al.⁸. Segundo Sidrim e Moreira⁹, foi possível mostrar estreita correlação entre fezes de pombos e o nicho ecológico de *C. neoformans*, no qual grandes conglomerados espaciais de pombos, associados à ventilação insatisfatória, limpeza inadequada e temperatura elevada são fatores predisponentes para se encontrar um número mais elevado desse microrganismo. Esses fatores são justificados em nossa pesquisa pelo significativo isolamento desse fungo (30%) em ninhos de pombos debaixo de caixas d'água, onde há substrato suficiente para o desenvolvimento desse microrganismo, além de temperatura ótima em determinadas estações do ano, limpeza inadequada na maioria das vezes pelo difícil acesso e ventilação insatisfatória.

Trabalhos como os de Passoni¹⁰ demonstraram os possíveis nichos ecológicos do *C. neoformans*, indicando que o principal fator associado com a poluição domiciliar por este agente foi a presença ou proximidade de aves no ambiente doméstico. Pela observação do ambiente urbano do Rio de Janeiro, verificamos que os pombos se fazem presentes em todo o ambiente, o que facilita a poluição com fezes dessas aves, favorecendo a multiplicação do *C. neoformans*, aumentando a possibilidade da infecção de humanos e animais domésticos. Esta observação corrobora a demonstração do autor retrocitado. Baseado nessas informações, a opinião é a de que se faz necessário reavaliar as medidas de controle da população de pombos, principalmente em ambientes hospitalares onde são internados os enfermos portadores dos mais variados quadros clínicos, ressaltando a importância da transmissão do *C. neoformans* para pacientes imunodeprimidos ou imunossuprimidos, como aidéticos, pacientes carcinomatosos submetidos a radioterapia ou quimioterapia, pacientes desnutridos ou imunossuprimidos pelo uso de corticóides¹¹.

Estudos demonstraram que alguns fatores são indispensáveis para a instalação da criptococose, já que este agente foi isolado de secreções do nasofaringe e superfície da pele de pessoas saudáveis e de animais^{1,12}. Esse fato pode ser justificado com o resultado deste trabalho, que isolou *C. neoformans* de secreção nasal de 3,3% de cães e 6,6% de gatos aparentemente saudáveis (Figura 1). Trabulsi & Alterthum² ressaltaram que *C. neoformans* não faz parte da microbiota saprófita de humanos e animais. Somos de opinião que uma pesquisa mais aprofundada deve ser realizada para verificar se a presença do fungo está relacionada com a frequente poluição do ambiente, ou se esse fungo pode se adaptar ao hospedeiro na condição de constituinte da microbiota saprófita de organismos de humanos e de animais domésticos.

Caicedo *et al.*¹³, chamaram atenção da importância das fezes de pombos como substrato para a multiplicação de *C. neoformans*. Esses autores comentaram que a quantidade de fezes aumenta durante a época de incubação dos ovos e criação dos filhotes, pois diferente de outras aves, os pombos não retiram o material fecal dos ninhos, permitindo o empilhamento de substratos com os sucessivos períodos de reprodução. Nossas observações confirmam as afirmações desses autores. No local estudado, identificamos todas as condições citadas, que certamente oferecem os fatores necessários para a multiplicação e permanência do fungo no ambiente, com possível transmissão para humanos e animais domésticos, onde de acordo com o teste de Qui-quadrado e de Mantel-Haenszel, pode ser dito que as fezes de pombos mantêm *C. neoformans* no perímetro pela forte correlação entre os resultados dos isolados de ninhos de pombos e poeira com a frequência desse microrganismo em secreção nasal de cães e gatos.

Dessa maneira, da análise dos resultados pelo registro de *C. neoformans* no bairro de Ricardo de Albuquerque, com uma frequência de 30% tanto nos ninhos de pombos como na poeira de áreas circunvizinhas ao conglomerado espacial de pombos; e de 3,3% e 6,6% na secreção nasal de cães e gatos, respectivamente, e há forte correlação entre poeira, ninhos de pombos e infecções em cães e gatos. É recomendada a profilaxia sugerida por Caicedo *et al.*¹³, que indicam medidas para evitar a acumulação de fezes de pombos nos ambientes urbanos.

Tabela 1 - Indicadores da presença de *Cryptococcus neoformans* em ninho de pombo, secreção nasal de cão, de gato, e em poeira no bairro Ricardo de Albuquerque, município de Rio de Janeiro, RJ, coletadas em março de 2008.

Classes de fonte de amostragem	Amostras			
	Coletadas		Positivas	
	Número	Porcentagem sobre total	Número(*)	Porcentagem na classe
Ninhos de pombos	40	26,67%	12 ^{a,1}	30,00%
Secreção nasal de cães	30	20,00%	01 ^{b,1,2}	3,33%
Secreção nasal de gatos	30	20,00%	02 ^{b,1,2}	6,66%
Poeira sobre solo	50	33,33%	15 ^{a,2}	30,00%
T o t a l	150	100,00%	30	20,00%

(*) = Expoentes com letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os números de amostras positivas (Teste Qui Quadrado; $p < 0,05$); expoentes com números iguais na mesma coluna indicam correlação positiva significativas entre os números de amostras positivas (Teste de Mantel-Haenszel; $p < 0,05$).

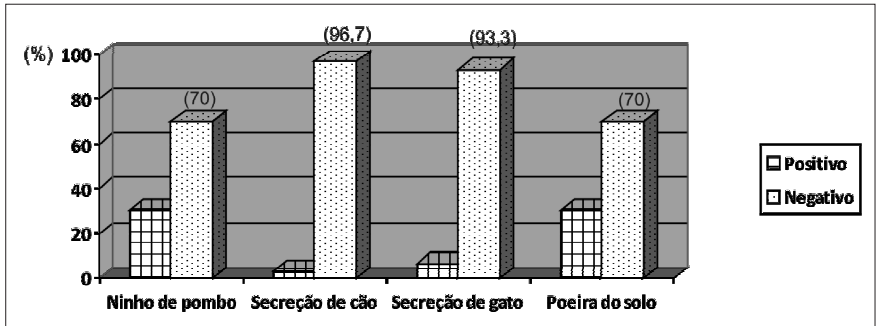


Figura 1 - Percentual de amostras positivas e negativas para infecção por *Cryptococcus neoformans* em quatro classes de substrato no bairro Ricardo de Albuquerque, município de Rio de Janeiro, RJ, coletadas em março de 2008.

5. REFERÊNCIAS

1. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC. Micologia Médica. Ed. Sarvier, São Paulo, 1991. p. 464-66.
2. Trablusi LR, Alterthum F. Microbiologia. Ed. Atheneu, Rio de Janeiro, 2008. p. 108.
3. Murta-Oliveira C, Martin PWL, Romanelli LCF, Lima CP, Castro Neto M. Criptococomas em pacientes imunocompetentes. Bras. J. Infect. Dis. 2001. 5(2): 52-4.
4. Batista RS, Gomes AP, Igreja RP, Huggins DW. Medicina Tropical. Ed. Cultura Médica, Rio de Janeiro, 2001. p. 1208-10.
5. Fisher F, Cook NB. Micologia, Fundamentos e Diagnóstico. Ed. Revinter, Rio de Janeiro, 2001. p.85.

6. Montenegro H, Paula CR. Environmental Isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* and *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* in the city of São Paulo, Brazil. Rev. Med. Mycol. 2000. 38(5): 385-90.
7. Veronesi R, Focaccia R. Tratado de Infectologia. Ed. Atheneu, Rio de Janeiro, 2009. p. 237.
8. Brooks GL, Carroll KC, Butel JS, Morse AS, Meitzner TA. Microbiologia Médica de : Jawetz, Melnick e Adelberg. Ed. Artmed, Rio de Janeiro, 2011. p.463.
9. Sidrim JJC, Moreira JLB. Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1999. p. 463-64.
10. Passoni LF, Wanke B, Nishikawa MN, Lazera MS. *Cryptococcus neoformans* isolated from human dwellings in Rio de Janeiro, Brazil: an analysis of the domestic environment of AIDS patients with and without cryptococosis. Rev. Med. Mycol. 1998. 36(5): 305-311.
11. Leal JLP, Andreu CMF, Machín GM, Zaragozí MTI, Lancha MRP. *Cryptococcus gattii* aislado de un guepardo (*Acinonyx jubatus*) del Parque Zoológico Nacional de Cuba. Rev. Cubana Med. Trop. 2010. 62(3):257-260.
12. Bava AJ, Negroni R. Estudio epidemiológico sobre criptococosis em San Pedro (Provincia de Buenos Aires). Rev. Arg. Micol. 1996; 9: 12-16.
13. Caicedo LDB, Alvarez MIV, Llanos CE, Molina D. *Cryptococcus neoformans* en excretas de palomas del perímetro urbano de Cali. Rev. Colombia Méd. 1996; 27:106-109.