

ASPECTOS DE CONTAMINAÇÃO BIOLÓGICA PELO COMPLEXO CRYPTOCOCCUS: ANÁLISES EM FILTROS DE AUTOMÓVEIS QUE TRAFEGAM NAS CIDADES DE CUIABÁ E VÁRZEA GRANDE/MT: PERSPECTIVAS SOBRE A ECO-EPIDEMIOLOGIA E NOVOS NICHOS ECOLÓGICOS

Andréia de Souza Ferri¹, Andrieli Izé da Silva¹, Klaucia Rodrigues Vasconcelos¹,
Reginalda Campos de Jesus¹ e Diniz Pereira Leite Júnior²

RESUMO:

A criptococose é uma micose primariamente pulmonar, sendo adquirida por meio de inalação de propágulos fúngicos infectantes encontrados no ambiente e uma das micoses sistêmicas mais letais na atualidade. A proposta deste estudo foi de investigar a presença de *Cryptococcus* em novos nichos ecológicos. Foram selecionados 50 filtros de ar condicionados de automóveis nas cidades de Cuiabá e Várzea Grande. Com auxílio de swab, foram coletados a poeira interna de filtros. O material coletado foi semeado em ágar Sabouraud em triplicata, acrescido de cloranfenicol pelo método de Spread-plate com auxílio de alça de Drigalski. As identificações das amostras isoladas foram confirmadas por métodos fenotípicos, realizados através da observação microscópica em preparações à fresco coradas pela tinta da China e testes adicionais em meio CGB (L-Canavanina-glicina-azul de bromotimol), ágar Níger (*Guizotiaabyssinica*) e caldo de uréia foram utilizados. Das 50 amostras de filtros analisadas, 17 (34%) foram positivas para isolamento de fungos do gênero *Cryptococcus*. A confirmação das espécies por métodos fenotípicos comprovou serem as colônias pertencentes ao complexo *Cryptococcus*, foram encontrados entre os isolados de *Cryptococcus* identificados *C. neoformans* (n=13), *C. gattii* (n=10), *C. albidus* (n= 5) e *C. terreus* (n=3) associado com *C. laurentii* (n=1), (Tabela 1). Testes de identificação molecular PCR serão realizados futuramente para a confirmação das amostras isoladas e sua identificação específica. O isolamento de *C. neoformans* (41,9%) e *C. gattii* (32,2%) demonstraram que a presença de espécies potencialmente patogênicas, bem como espécies emergentes, pode refletir a possibilidade de tais espécies, que estão presentes em uma grande variedade de substratos, constituindo agentes infecciosos para criptococoses. O estudo ora apresentado se reveste de importância, pelo aspecto inédito relatando a associação deste fungo no micro-habitat de filtros de automóveis, sendo um fato de extrema importância e relevância em saúde pública e estes dados encontrados neste estudo abrem uma interessante perspectiva sobre a ecoepidemiologia e novos nichos ecológicos.

Palavras-Chaves: Leveduras *Cryptococcus*, filtros de automóveis, meningite, infecções fúngicas.

¹ Acadêmicos do curso de Biomedicina, 8º Semestre, 2017. Centro Universitário de Várzea Grande, UNIVAG;

² Docente do curso de Biomedicina. Centro Universitário de Várzea Grande, UNIVAG;

ASPECTS OF BIOLOGICAL CONTAMINATION BY THE COMPLEX CRYPTOCOCCUS: ANALYSIS IN CAR FILTERS TRAFFICING IN THE CITIES OF CUIABÁ AND VÁRZEA GRANDE/MT: PERSPECTIVES ON ECO-EPIDEMIOLOGY AND NEW ECOLOGICAL SIGNS

ABSTRACT:

Cryptococcosis is a primarily pulmonary mycosis, and is acquired through the inhalation of infectious fungal propagules found in the environment and one of the most lethal systemic mycoses today. The purpose of this study was to investigate the presence of *Cryptococcus* in new ecological niches. We selected 50 air conditioned air filters in the cities of Cuiabá and Várzea Grande. With the help of swab, the internal filter dust was collected. The collected material was seeded in Sabouraud agar in triplicate, plus chloramphenicol by the Spread-plate method with the help of Drigalski's handle. The identifications of the isolated samples were confirmed by phenotypic methods, performed by microscopic observation on fresh preparations stained by China ink and additional tests on CGB (L-Canavanine-glycine-bromothymol blue) medium, Niger agar (*Guizotiaabyssinica*) and urea broth were used. From the 50 samples of filters analyzed, 17 (34%) were positive for isolation of fungi of the genus *Cryptococcus*. *Cryptococcus* isolates were identified as *C. neoformans* (n = 13), *C. gattii* (n = 10), *C. albidus* (n = 5) and *Cryptococcus*) and *C. terreus* (n = 3) associated with *C. laurentii* (n = 1). Identification of *C. neoformans* (41.9%) and *C. gattii* (32.2%) demonstrated that the presence of potentially pathogenic species, as well as emerging species, might reflect the possibility of such species, which are present in a wide variety of substrates, constituting infectious agents for cryptococcosis.

Key-words: *Cryptococcus* yeasts, car filters, meningitis, fungal infections.

INTRODUÇÃO

Um veículo possui basicamente quatro filtros de troca constantes: óleo, ar de motor, combustível e ar de cabine. Os filtros de cabine são como um purificador de ar, é um item bastante importante em um veículo, uma vez que as pessoas acabam passando horas em um congestionamento, fechadas em um ambiente pequeno ventilado ou refrigerado pelo ar externo que está carregado de poluentes das grandes cidades. Também é um dos únicos itens que está ligado diretamente à saúde e o bem-estar dos ocupantes do veículo (LEGNER, 2015).

Legner (2015) ainda firma que, os filtros de cabine, bloqueiam as menores partículas que possam causar algum tipo de alergia ou reação que podem ser absorvidas pelo muco respiratório ou pelas vias nasais, podendo atingir os brônquios provocando problemas à saúde, além de separar e isolar a entrada do ar externo do veículo permitindo a entrada de ar limpo para o habitáculo do veículo.

Devido ao considerável aumento do tráfego global e ao inevitável agravamento dos níveis de poluição, a população está exposta ao ataque de muitos poluentes que invadem o interior dos veículos através dos dutos de ventilação ou do ar condicionado. “A exposição prolongada a um elevado nível de poluição é desagradável e pode até ter um efeito prejudicial sobre a saúde dos ocupantes do automóvel” (LEGNER, 2015).

A Criptococose é uma micose sistêmica causada por um complexo de fungos leveduriformes do gênero *Cryptococcus*, que acometem em humanos causando alterações no trato respiratório e sistema nervo central (SIDRIM et al. 2004; ROCHA et al. 2004)

Esta doença vem assumindo um papel relevante dentre as infecções fúngicas oportunista por ser considerada uma das micoses mais comum nos indivíduos imunodeprimidos. São encontradas na natureza, em fezes de pombos e de outras aves e de madeira em decomposição, mas podem viver saprofiticamente no organismo do homem (criptococose – infecção) (SILVA et al. 2008; FILIÚ et al. 2002; FERNANDES et al. 2000) e ainda relatados em outras diversas fontes de contaminação (LEITE - Jr et al, 2012).

Essa micose é considerada uma das doenças definidoras de AIDS pelo ministério da saúde pública em nosso país, não é uma doença de notificação compulsória, é difícil definir o número de casos e de óbitos relacionados a essa grave micose. Outras condições imunossupressoras, além da AIDS estão a Criptococose por *C.neoformans* com o uso

extensivo de corticóides e transplante de órgãos, a infecção por *C.gattii*, ocorre em indivíduos sem imunossupressão (LIN et al. 2006).

Os sintomas da criptococose são: dor no peito, rigidez na nuca, suores noturnos, confusão mental, alterações de visão, comprometimento ocular, pulmonar, ósseo e da próstata, corrimento nasal, dispnéia, espirros, dor de cabeça, náuseas, vômitos, sensibilidade à luz, febre, fraqueza, lesões na pele (nódulos, edemas, celulite, erupções e feridas), perda de coordenação motora e perda da fala. Os sintomas manifestados dependem dos órgãos afetados, que podem se limitar ao sistema respiratório ou se estender a outros órgãos, como próstata, ossos e o cérebro (meningite) (CALNEK et al. 1991).

O tratamento mais eficaz para amenizar os sintomas da Criptococose, deve ser feito através da administração de Anfotericina B e Fluconazol, o tratamento deve ser iniciado o mais rápido possível, para diminuir o risco de vida do paciente. Ela atinge o mundo todo e ainda não existem medidas preventivas específicas, apenas atividades educativas relacionadas ao risco de infecção (HILL et al. 1995).

A prevenção da Criptococose se limita a evitar o contato direto com as fontes transmissoras da doença, principalmente os pombos, uma das principais estratégias é o controle dos pombos, umidificando os locais onde há enormes acúmulos de fezes de pombos, para evitar que o fungo se disperse por aerossol (HILL et al. 1995).

A reprodução do *Cryptococcus* é conhecida somente in vitro, porém, ambas as espécies com relação sexual complementar podem coexistir em um mesmo nicho, possibilitando a ocorrência de cruzamentos naturais (FORTES et al. 2001; FRASER et al. 2003; TRILLES et al. 2004).

A reprodução do *C. neoformans* e *C. gattii* é assexuada, ocorrendo por brotamento, estando a grande maioria dos isolados clínicos e ambientais presentes na forma anamórfica haplóide. Entretanto, essa levedura pode se reproduzir sexuadamente, correspondendo ao estado perfeito, denominado de *Filo basidiella neoformans*, forma anamorfa *C. neoformans* e *Filo basidiella bacillispora*, forma anamorfa *C. gattii*. A reação sexual ou mating types (MAT), os quais são complementares. Possuem um locus com dois alelos α (MAT α) e a (MATa). Mais de 95% dos isolados clínicos e ambientais corresponde ao MAT α (KNOW-CHUNG e BENNETT et al. 1992; MITCHELL e PERFECT et al. 1995; SORREL e ELLIS et al. 1997; BOEKHOUT et al. 2001; CASALI et al. 2001; TRILLES et al. 2004).

Um importante fator para a ocorrência do cruzamento e a limitação de nutrientes. As células MAT α produzem o feromônio MF α na ausência de nitrogênio e, em resposta a esse feromônio, as células MAT α formam um tubo de conjugação. Através da conjugação, as células produzem hifas dicarióticas com grampos de conexão. Essas hifas produzem basídios terminais subglobulosos ou clavados, onde ocorre cariogamia, meiose, mitose e, então a germinação dos basidiósporos em leveduras (KNOW-CHUNG & BENNETT *et al.* 1992; SORREL & ELLIS *et al.* 1997; CHANG *et al.* 2000; LENGELER *et al.* 2001).

Atualmente são conhecidos os sorotipos A, B, C, D e AD do *C. neoformans* que se encontram distribuídos em três variedades: *C. neoformans* var. *neoformans* (sorotipos A, AD, D), *C. neoformans* var. *gattii* (sorotipos B, C) (KWON-CHUNG & BENNETT, 1992) e *C. neoformans* var. *grubii* (sorotipo A) os quais diferem em aspectos bioquímicos, ecológicos, antigênicos e genéticos. *C. neoformans* var. *neoformans* tem distribuição cosmopolita e está relacionada a fontes ambientais como solos contaminados naturalmente com excretas de aves, principalmente pombos (REOLON *et al.* 2004).

Mais atualmente; Hagen e seus colaboradores (2016) realizaram análise filogenética de 11 loci genéticos e os resultados de muitos estudos de genotipagem revelaram uma diversidade genética significativa com o complexo de espécies patogênicas *Cryptococcus gattii* / *Cryptococcus neoformans*. As abordagens de concordância genealógica, coalescência e arborescência de espécies apoiaram a presença de linhagens distintas e concordantes dentro do complexo. As propostas taxonômicas para as novas espécies ficaram classificadas conforme *C. neoformans*, *C. deneoformans*, *C. bacillospurus*, *C. gattii*, *C. deuterogattii*, *C. tetragattii*, *C. decagattii*. As espécies recém-delimitadas diferem em aspectos de patogenicidade, prevalência para grupos de pacientes, bem como aspectos bioquímicos e fisiológicos, como a susceptibilidade a antifúngicos.

Pelo exposto, verificou-se a necessidade de avaliar a possível distribuição das leveduras do gênero *Cryptococcus* em filtros de veículos automotores pertencentes à cidade de Cuiabá e Várzea Grande em Mato Grosso, considerando-se não existir nenhum registro até o momento na literatura deste agente etiológico neste tipo de substrato e desta forma pode-se avaliar e compreender o binômio hospedeiro-ambiente, que poderão contribuir para o conhecimento da eco-epidemiologia das leveduras do gênero *Cryptococcus* no estado e com isso poder alertar a população sobre a importância da troca regular do filtro de ar de seu

carro e os possíveis agravos que esses agentes fúngicos podem causar à saúde das pessoas que utilizam esses ambientes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados neste estudo 50 filtros de ar condicionado de veículos automotores, coletados nas cidades de Cuiabá e Várzea Grande, estado de Mato Grosso, que foram obtidos após o descarte pelos proprietários de veículos e colhidos no período de março à julho/2017. As amostras foram acondicionadas em sacolas estéreis, receberam identificação dos automóveis, como marca, modelo, ano e a qual cidade pertenciam.

Após as coletas e identificações das amostras de filtros; o material coletado foi conduzido ao laboratório de Microbiologia do Centro Universitário de Várzea Grande – UNIVAG. Para o isolamento dos fungos foram utilizadas placas de Petri contendo meio de cultura ágar Sabouraud dextrose adicionado de cloranfenicol na concentração de 50mg/L, com intuito de inibir o crescimento de bactérias envolvidas no substrato da poeira (LEITE-JR. et al., 2012).

Todo material a ser utilizado para o isolamento foram identificados antecipadamente com os códigos criados para esta finalidade. Os filtros foram submetidos um a um a esfregaço com swab estéril umedecido com solução salina estéril 0,9% acrescido de cloranfenicol 0,5 mL. Os swabs foram comprimindo-o contra as paredes do frasco de salina, para remover o excesso de líquido e em seguida friccionados sobre a superfície dos filtros. Após o tempo de fricção o tubo contendo o material recolhido das amostras foram homogeneizados por três minutos, sendo posteriormente mantido em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente.

O sobrenadante foi aspirado e 0,1 mL semeado em placa de Petri com meio de ágar Sabouraud dextrosado a 2% acrescido de cloranfenicol 05 mL com repetições em triplicata, realizando Spread-plate com semeadura utilizando alça de Drigalski estéril. O material foi incubado a 25°C-27°C por até 72 horas com observação diária para detecção de crescimento fúngico (CONTIN et al., 2009; LIMA et al., 2015; LACAZ et al., 2002; KWON-CHUNG; BENNETT, 1992).

As colônias removidas das placas semeadas (colônias primárias) com material dos filtros foram re-isoladas; semeadas em meio Sabouraud acrescido de cloranfenicol e

incubadas por 5-7 dias à temperatura de 25°-27°C. Após o crescimento foram submetidas à identificação, através de provas morfofisiológicas.

Após a identificação das leveduras, foram realizadas a contagem do total de unidades formadoras de colônias (UFC) típicas de *Cryptococcus* nas placas. Após incubação e contagem, as colônias leveduriformes compatíveis com *Cryptococcus* spp., de consistência mucóide, brilhantes, de coloração branco a bege, foram submetidas ao exame micromorfológico. Este exame foi realizado dispondo uma alçada da colônia juntamente com a tinta da China (nigrosina), com posterior visualização em microscopia óptica 40X para identificação da presença da cápsula de mucopolissacarídeo, característica típica de fungos do gênero *Cryptococcus* (CONTIN *et al.*2009; LIMA *et al.*2015; KWON-CHUNG e BENNETT, 1992).

As colônias de *Cryptococcus* spp. foram repicadas em tubos com ágar uréia base (Christensen), e incubadas a 25°C por cinco dias para comprovação da produção de urease pela levedura, e em tubos com Ágar CGB (Canavanina Glicina Azul de Bromotimol) para diferenciação da espécie *C. neoformans* e *C. gattii* (LIMA *et al.*2015; CONTIN *et al.*2009; LACAZ *et al.*, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O reservatório de leveduras do complexo *Cryptococcus*, agentes etiológicos de criptococose, apresentam crescimento saprófito em ambientes extrínsecos. Apesar de ainda ser pequena a difusão do conhecimento sobre os efeitos da urbanização no clima das cidades, parece evidente que o crescimento urbano e a industrialização acelerada contribuem para a contaminação da atmosfera (CARTAXO *et al.*2007).

Áreas densamente construídas e urbanizadas sofrem os efeitos do tráfego congestionado de veículos, das construções, dos desmatamentos, das atividades industriais e, também, do uso de condicionadores de ar, neste caso também incluem os dos veículos automotores, indispensáveis para a climatização de ambientes e para o conforto humano, principalmente muito utilizados em cidades tropicais e subtropicais, com elevadas temperaturas quentes e úmidas (Aw - tropical seco e úmido, de acordo com a classificação de Köppen-Geiger, 1928) como é o caso das cidades de Cuiabá e Várzea Grande no Estado de Mato Grosso.

Os problemas alérgicos e casos graves de infecções respiratórias e dermatológicas podem resultar da incorreta manutenção dos aparelhos condutores de ar-condicionado. As fezes de pombos, por exemplo, consideradas a principal fonte de contaminação do *Cryptococcus neoformans*, e de seu complexo de espécies e variedades; quando secas, podem ser aspiradas para dentro do sistema e espalhadas no ambiente refrigerado.

Estudo realizado na cidade de Porto Alegre, em excretas de pombos, confirmou a presença de *Cryptococcus neoformans* em 100% das amostras avaliadas e assinala que este fungo pode ser disperso no ar e posteriormente inalado (REOLON *et al.* 2004). Estudo conduzido por TAKAHARA *et al.* (2013), que analisou amostras de excrementos de pombo na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, coletados de vários ambientes domésticos, comerciais e públicos, verificou a presença de cepas de *C. neoformans* demonstrada em excrementos de pássaros.

O relato supracitado por REOLON *et al.* (2004) e sua casuística, remete a afirmação de que os aparelhos de ar-condicionado dos veículos automotores estão suficientemente expostos para se tornarem excelentes reservatórios para estas entidades fúngicas. A matéria fecal (TAKAHARA *et al.* 2013), partículas de substratos vegetais (YAMAMURA *et al.* 2013), aliados e incorporados ao pó (LEITE-JR *et al.* 2012), pode permitir que os microrganismos se propaguem nos condutores de ar-condicionado e conseqüentemente provocarem infecções oportunistas e sistêmicas.

Destas, 50 das amostras de filtros analisadas, 17 (34%) foram positivas para isolamento de fungos do gênero *Cryptococcus*. As 33 (66%) amostras restantes foram negativas consideradas contaminadas devido ao crescimento rápido e abundante de fungos ambientais, principalmente zigomicetos e basidiomicetos miceliais, impedindo a visualização das demais colônias fúngicas isoladas (Tabela 1).

Considerando as leveduras identificadas neste estudo, puderam ser identificadas quatro espécies do gênero *Cryptococcus* pelos métodos fenotípicos. Destas, *C. neoformans* e *C. gattii* está associada a abscessos pulmonares, fungemia associada ao cateter (ABEGG *et al.* 2006; TAKAHARA *et al.* 2013); *C. albidus* está relacionado a meningite, infecções pulmonares e onicomicose (SEVERO *et al.* 2009), e finalmente *C. terreus* está relacionado a um caso raro de Tenosinovite (inflamação do punho) (HUNTE-ELLUL *et al.* 2014) isolados neste estudo 41,9%, 32,3%, 16,1%, 9,7%, respectivamente.

Tabela 1. Unidades formadoras de colônias das amostras coletadas dos filtros de automóveis que circulam nas cidades de Cuiabá e Várzea Grande no período de Maio à Julho/2017.

No.	FILTRO/MODELO/ANO	CÓDIGO	PLACAS	QTD/ UFC	ESPÉCIE	%
1	Voyage 1.6 – 2014	FA001	A	5	<i>C. gattii</i>	16,1
2	Hillux – 2016	FA002	A	1	<i>C. neoformans</i>	3,2
3	Fox – 2010	FA003	A	1	<i>C. neoformans</i>	3,2
4	Prisma – 2016	FA004	B	3	<i>C. neoformans</i>	9,7
5	Gol – 2015	FA005	A	1	<i>C. neoformans</i>	3,2
6	Hillux – 2013	FA007	A	2	<i>C. albidus</i>	6,5
7	Cross Fox – 2014	FA013	C	3	<i>C. gattii</i>	9,7
8	Amarok – 2015	FA015	B	1	<i>C. neoformans</i>	3,2
9	Pollo – 2014	FA016	A	1	<i>C. neoformans</i>	3,2
10	Voyage – 2016	FA017	A	2	<i>C. gattii</i>	6,5
11	Toyota Corolla - 2015	FA020	B	1	<i>C. neoformans</i>	3,2
12	Fiat Doblo – 2015	FA021	A	2	<i>C. neoformans</i>	6,5
13	Ford Fiesta – 2013	FA023	C	3	<i>C. terreus</i>	9,7
14	Uno Sedã – 2014	FA029	A	1	<i>C. neoformans</i>	3,2
15	Santana – 2011	FA032	B	2	<i>C. albidus</i>	6,5
16	Kylie Jenner – 2013	FA044	A	1	<i>C. albidus</i>	3,2
17	Peugeot – 2014	FA050	B	1	<i>C. neoformans</i>	3,2
TOTAL		-	-	31		100

A criptococose geralmente está relacionada à infecção por *C. neoformans* e *C. gattii*, espécies incriminadas como potenciais patógenos de infecções oportunistas (OLAVE et al, 2017; KWON-CHUNG et al, 2014; YAMAMOTO et al, 2013; MARTINS et al, 2011; FAVALESSA et al, 2009) e raramente é causada por outras espécies, incluindo *C. albidus*, *C. laurentii*, *C. humiculus*, *C. curvatus* e *C. uniguttulatus*. No entanto, nos últimos anos, foram notificadas infecções oportunistas associadas à esta agente criptococose (BERNAL-MARTINEZ et al. 2010; KHAWCHAROENPORN et al. 2007).

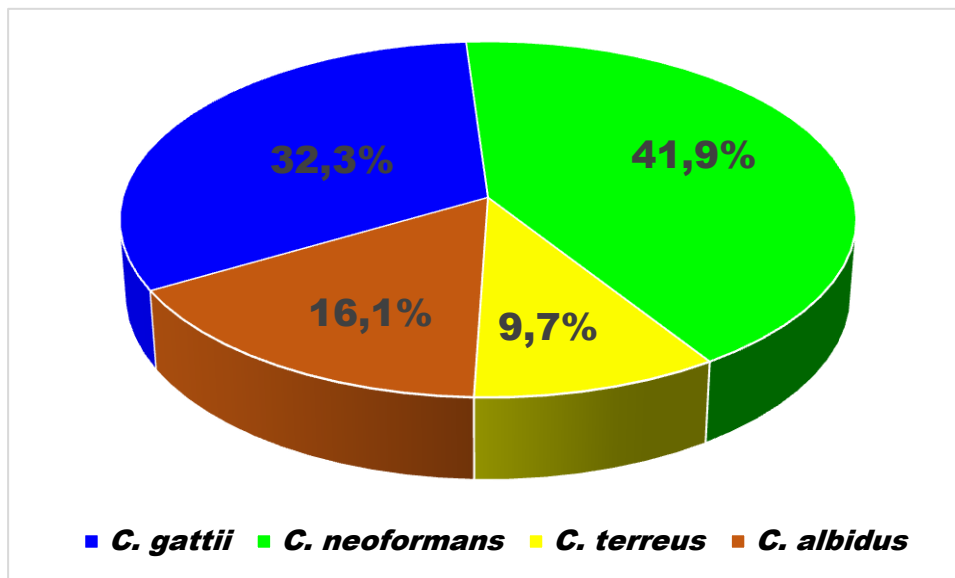
De acordo com Khawcharoenporn et al. (2007), as outras espécies do gênero *Cryptococcus* são geralmente consideradas saprófitos sendo que, nos últimos anos, foram publicados estudos na literatura sobre infecções causadas por outras espécies, sendo *C. albidus* e *C. laurentii* responsáveis por 80% dos casos de criptococose causados por organismos diferentes de *C. neoformans* e *C. gattii*.

Com o aumento do número de pacientes que apresentam sistemas imunológicos comprometidos e o amplo uso de agentes imunossupressores, a incidência de infecções fúngicas tem aumentado em todo o mundo, incluindo aqueles causados por espécies

emergentes de *Cryptococcus*, como *C. albidus* e *C. laurentii* (PEDROSO *et al.* 2010). *Cryptococcus* spp. que são patógenos raros, como *C. albidus* ou *C. laurentii*, podem ser encontrados em vários ambientes, incluindo solo, plantas, alimentos e guano aviário. *C. albidus* é um saprófito generalizado no solo (SPICKLER, 2013).

Neste estudo, foram encontrados *Cryptococcus* sp em 34% das amostras (n =17). (Tabela 1). Entre os isolados de *Cryptococcus* foram identificados *C. neoformans* (n=13), *C. gattii* (n=10), *C. albidus* (n=5) e *C. terreus* (n=3)

Figura1. Percentual de isolamento de leveduras do complexo *Cryptococcus* isoladas de amostras de filtros de automóveis que circulam nas cidades de Cuiabá e Várzea Grande no período de Maio à Julho/2017.



O isolamento de *C. neoformans* (41,9%) e *C. gattii* (32,2%), (Figura 1), demonstrou que a presença de espécies potencialmente patogênicas, bem como espécies emergentes, pode refletir a possibilidade de tais espécies, que estão presentes em uma grande variedade de substratos, constituindo agentes infecciosos para criptococoses.

Outros agentes infecciosos foram também observados no isolamento de *Cryptococcus*, porém não foram objetos deste estudo. 32 colônias isoladas que corresponderam a *Rhodotorula mucilaginosa*, levedura que desempenha um papel questionável como patógeno; no entanto, casos de meningite em pacientes HIV positivos foram relatados como causadores de infecções por esta levedura beta carotenoide (LOSS *et al.* 2011). 17 colônias de leveduras do gênero *Cândida*, também foram observadas nessas amostras, essas leveduras como, por

exemplo, *Cândida albicans*, apresentam grande capacidade patogênica provocando candidoses na pele e com mais frequência nas unhas (JOUTOVÁ *et al.* 2001).

No Brasil, de acordo com dados oficiais, 4,4% das infecções oportunistas relacionadas com AIDS são causadas por *C. neoformans* e *C. gattii* agentes etiológicos incriminados causadores de criptococose. A mortalidade por criptococose é estimada em 10% nos países desenvolvidos, chegando a 43% nos países em desenvolvimento (BRASIL, 2016).

Vale ressaltar, que em outras regiões brasileiras (Nordeste, Sul e Sudeste), vários relatos indicam a presença das leveduras de *C. neoformans* (LIMA *et al.* 2015; YAMAMURA *et al.* 2013; MARTINS *et al.* 2011). Na região Centro-Oeste, também foram descritos trabalhos nos estados de Goiás (KOBAYASHI *et al.* 2005) e Mato Grosso do Sul (FILIÚ *et al.* 2002).

O primeiro relato realizado em Mato Grosso abordando caracterização fenotípica de amostras clínicas positivas para *Cryptococcus* spp. em pacientes portadores de HIV e não portadores foi realizado por FAVALESSA *et al.* (2009). Depois os relatos de isolamento das leveduras capsuladas em amostras de poeira colhidas de bibliotecas realizados por Leite-Jr *et al.* (2012) e na sequência os achados de TAKAHARA *et al.* (2013) com excretas de pombos.

Em relação a distribuição geográfica de *C. gattii* também apresenta variação conforme os sorotipos registrados. Desde o surto ocorrido na ilha de Vancouver, no Canadá, relatado em 1999, mudou-se o conceito relacionado ao padrão de distribuição desta espécie, que se acreditava estar restrita às áreas tropicais e subtropicais do mundo (KWON-CHUNG & BENNETT, 1984; KIDD *et al.* 2007, LINDBERG *et al.* 2007; SPICKLER, 2013) e sua ecologia passou a ser melhor compreendida quando o sorotipo B foi isolado de árvores hospedeiras das espécies de *Eucalyptus camaldulensis* na Califórnia e *E. tereticornis* na Austrália, estabelecendo associação do nicho ecológico com: madeira em decomposição da base dos troncos, folhas, flores os basidiósporos da fase sexuada são considerados propágulos infectantes dispersos no mesmo períodos de floração das árvores durante a primavera (BOEKHOUT *et al.* 2001; SORRELL *et al.* 2001; KIDD *et al.* 2004).

Em investigação posterior Lazera e seus colaboradores (2000) postulam as árvores como sendo o nicho ecológico das duas variedades; sendo o primeiro relato de isolamento de *C. neoformans* var. *neoformans* sorotipo D de árvores do gênero Eucaliptos ocorreu no estado do Rio Grande do Sul, no Brasil, onde a maioria dos isolados estão relacionados a *C. gattii* do sorotipo B (RIBEIRO *et al.* 2006).

Vários pesquisadores em seus estudos (CASADEVALL & PERFECT 1998; HULL & HEITMAN, 2002; ABEGG et al. 2006); acreditam que a rota de infecção se inicia nos pulmões. Algumas evidências para este fato são: identificação de excretas de aves como reservatária ambiental e a descoberta, nestas, de partículas infecciosas com tamanho compatível com a deposição alveolar; reconhecimento da pneumonia criptocócica e descrição de nódulos sub pleurais.

Este fato, descrito por estes autores em suas casuísticas, indicam em nossa pesquisas que possivelmente o micro ambiente dos filtros de ar condicionado de automóveis pode ser considerado foco da rota de infecção, quando do isolamento destes agentes fúngicos em 17(34%) dos filtros avaliados e assim sendo, este substrato poder ser considerado novo nicho ecológico do agente etiológico da criptococose, como demonstrado nos estudos encontrados em filtros de condicionadores de UTI's em hospitais (VALLABHANENI et al. 2015; SIMÕES et al. 2011).

Poucos são os registros desta entidade fúngica em poeira, merecendo destaque o trabalho realizado por Leite-Jr e seus colaboradores (2012), os quais isolaram sete espécies diferentes desta levedura basidiomicética sendo elas *Cryptococcus neoformans*, *C. gatti*, *C. albidus*, *C. luteolus*, *C. uniguttulatus*, *C. humiculus* e *C. terreus* na poeira de bibliotecas da região Centro Oeste do país, destacando a espécie *C. gatti*, como o agente afinizado com este substrato. Em 2015, Brito-Santos e seus colaboradores isolaram amostras de *Cryptococcus gatti* na poeira de residências típicas no estado do Amazonas.

Embora não possamos fornecer uma explicação definitiva sobre as pesquisas realizadas, esperamos que estudos futuros indica possíveis infecções causadas por leveduras do complexo *Cryptococcus* em filtros de automóveis e sobre os possíveis problemas diagnósticos causados por contaminantes pulmonares. Entretanto, os resultados sugerem que os estudos destes patógenos devem ser empregados na avaliação da etiologia de infecções pulmonares e outras que parecem ser causadas por *Cryptococcus neoformans*, *C. gatti* e demais espécies do gênero.

A alta diversidade de leveduras do gênero *Cryptococcus* spp., isolada de diversas fontes ambientais sugere a possibilidade de indivíduos imunocomprometidos e até mesmo hígidos entrarem em contato com múltiplas fontes de inoculação ao longo de suas vidas. O estudo ora apresentado se reveste de importância, pelo aspecto inédito relatando a associação deste fungo no micro-habitat de filtros de automóveis, sendo um fato de extrema importância e relevância em saúde pública. Os dados encontrados neste estudo abrem uma interessante

perspectiva sobre a ecoepidemiologia do *Cryptococcus gattii*, uma vez que se verificou que sua presença não está associada apenas a nichos ecológicos e evidencia a exposição dos indivíduos que permanecem em seus automóveis expostos com frequência aos propágulos infectantes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Podemos concluir que a importância de divulgar os resultados obtidos de forma ampla à sociedade, contribuindo para a sensibilização dos utilizadores de condicionadores de ar acerca das consequências, para a saúde, de sua incorreta manutenção e limpeza. Ao mesmo tempo, é importante o conhecimento, pelos ocupantes dos ambientes climatizados artificialmente, das medidas que devem ser tomadas para evitar o aumento das concentrações de agentes biológicos.

REFERÊNCIAS

- ABEGG M.A, CELLA F.L, FAGANELLO J, VALENTE P, SCHRANK A, VAINSTEIN M.H. *Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii isolated from the excreta of psittaciformes in a southern Brazilian zoological garden*. Mycopathologia. 161:83-91, 2006.
- BERNAL-MARTINEZ L; GOMEZ-LOPEZ A; CASTELLI M.V; MESA-ARANGO A.C; ZARAGOZA O; RODRIGUES-TUDELA J.L; CUENCA-ESTRELLA M. *Susceptibility profile of clinical isolates of non-Cryptococcus neoformans/non-Cryptococcus gattii Cryptococcus species and literature review*. Medical Mycology, 48, 90–96, 2010.
- BOEKHOUT, T.; THEELEN, B.; DIAZ, M.; FELL, J. W.; HOP, W. C.; ABELN, E. C. **Hybrid genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans***. *Microbiology*, 147(4) p: 891-907, 2001.
- BRASIL (2016). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. *Guia de Vigilância em Saúde*: [recurso eletrônico] Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 1. ed. atual. – Brasília: Ministério da Saúde. 773 p. Disponível em: <http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/6385405/4170293/-GUIADEVS2016.pdf>. Acesso 08 Nov 2017.
- BRITO-SANTOS F; BARBOSA GG; TRILLES L; NISHIKAWA MM; WANKE B; MEYER W; CARVALH-COSTA FA, LAZÉRA MS. *Environmental Isolation of Cryptococcus gattii VGII from Indoor Dust from Typical Wooden Houses in the Deep Amazonas of the Rio Negro Brasil*. Plos One 1-11, 2015.
- CALNEK, B.W., JOHN, B.H., BEARD, C.W., REID, W.M., YODER, H.W. Diseases of Poultry, ninth edition, Chlamydiosis (Ornithosis), cap. 14, p.338-39, 1991
- CARTAXO E.F; GONÇALVES A.C.L.C; COSTA F.R; COELHO I.M.V; SANTOS J.G. *Aspects of Biological Contamination In Air Conditioning Filters Installed in Manaus City Houses*. EngSanit Ambient 12(2): 202-211, 2007.
- CASADEVALL A, PERFECT JR. *Cryptococcus neoformans*. Washington: American Society for Microbiology Press; 1998.
- CASALI, A. K.; STAATS, C. C.; SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M. H. *Cryptococcus neoformans: aspectos moleculares e epidemiológicos*. *Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento*, 20:34-37, 2001.
- CHANG, Y. C.; WICKES, B. L.; MILLER, G. F.; PENOYER, L. A.; KWONCHUNG, K. J. *Cryptococcus neoformans STE12a regulates virulence but is not essential for mating*. The Journal of Experimental Medicine, 191: 871- 882, 2000.
- CONTIN, T. J.; QUARESMA, S. G.; SILVA, F. E.; **Ocorrência de cryptococcus neoformans em fezes de pombos na cidade de Caratinga**, Minas Gerais, Brasil. Rev Med Min Ger, v.21, p. 19-24, 2009.

- FAVALESSA O.C, RIBEIRO L.C, TADANO T, FONTES C.J, DIAS F.B, COELHO B.P.C, HAHN R.C. *First description of phenotypic profile and in vitro drug susceptibility of Cryptococcus spp yeast isolated from HIV – positive and HIV- negative patients in State of Mato Grosso*. Rev Soc Bras Med Trop.; 42(6): 661-665, 2009.
- FERNANDES, O. F. L.; COSTA, T. R.; COSTA, M. R.; SOARES, A. J. S.; PEREIRA, A. J. S. C.; SILVA, M. R. R. *Cryptococcus neoformans isolados de pacientes com AIDS*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 33(1): 75-78, 2000.
- FILIU, W. F. O. F.; WANKE, B.; AGUENA, S. M.; VILELA, V. O.; MACEDO, R. C. L.; LAZERA, M. *Cativeiro de aves como fonte de Cryptococcus neoformans na cidade de Campo Grande, Mato Grosso de Sul, Brasil*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 35(6): 591-95, 2002.
- FORTES, S. T. *Fontes saprobias e sexualidade de isolados clínicos e ambientais de Cryptococcus (Filobasidiella) neoformans no estado de Roraima Brasil*. Rio de Janeiro, 95, f. Dissertação de Mestrado em Biologia Parasitaria. Instituto Oswaldo Cruz. FIOCRUZ. 2001.
- FRASER, J. A.; SUBARAN, R. L.; NICHOLS, C. B.; HEITMAN, J. *Recapitulation of the sexual cycle of the primary fungal pathogen Cryptococcus neoformans var. gattii: implications for an outbreak on Vancouver Island, Canada*. Eukaryotic Cell, 2 (5): 1036-45, 2003.
- HILL, F. I.; WOODGYER, A. J.; LINTOTT, M. A. *Cryptococcosis in a North Island Brown kiwi (Apteryx australismantelli) in New Zealand*. Journal of Medical and Veterinary Mycology, v.33, p.305-9, 1995.
- HULL C.M & HEITMAN J. *Genetics of Cryptococcus neoformans*. Annu Rev Genet 36:557-615, 2002.
- HUNTE-ELLUL L; SCHEPP E.D; LEA A; WILKERON M.G. *A rare case of Cryptococcus luteolus-related tenosynovitis*. Infection. 42(4):771-4, 2014.
- JOUTOVÁ J; VIRÁGOVÁ S; ONDROSOVIC M; HOLODA E. *Incidence of Candida species isolated from human skin and nails: a survey*. Folia Microbiol (Praha) 46(4):333-7, 2001.
- KHAWCHAROENPORN T, APISARNTHANARAK A, MUNY LM. *Non-neoformans cryptococcal infectious: a systematic review*. Infection; 35:51-7. 2007.
- KIDD S.E; HAGEN F; TSCHARKE R.L; HUYNH M; BARLETT K.H, FYFE M, MACDOUGALL L; BOEKHOUT T; KWON-CHUNG K.J; MEYER W. *A rare genotype of Cryptococcus gattii caused the cryptococcosis outbreak on Vancouver Island (British Columbia, Canada)* Proc natl Acad Sci USA; 101:17258-63, 2004
- KIDD SE; CHOW Y; MAK S; BACH PJ; CHEN H; HINGSTON AO; KRONSTAD JW; BARTLETT KH. *Characterization of Environmental Sources of the Human and Animal Pathogen Cryptococcus gattii in British Columbia, Canada, and the Pacific Northwest of the United States*. Appl Environ Microbiol. 73(5): 1433–43, 2007.

KOBAYASHI C.C.B.A, SOUZA L.K.H, FERNANDES O.F.L, BRITO S.C.A, SILVA A.C, SOUSA E.D, SILVA M.R.R. *Characterization of Cryptococcus neoformans isolated from urban environmental sources in Goiania, Goias State, Brazil*. Rev INS Med Trop S Paulo 47(4):203–207, 2005.

KÖPPEN W. & R. GEIGER. *Klimate der Erde. Gotha: Verlag Justus Perthes*. Wall-map 150cmx200cm, 1928.

KWON-CHUNG K.J; BENNETT J.E. *High prevalence of Cryptococcus neoformans var. gattii in tropical and subtropical regions*. ZentralblBakteriolMidrobiolHyg; 257:213-8.

KWON-CHUNG K.J; FRASE J.A; DOERING T.L; WANG Z.A; JANBON G; IDNURM A; BAHN Y.S. *Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii, the Etiologic Agents of Cryptococcosis*. Cold Spring Harb Perspect Med, 4:a019760, 2014.

KWON-CHUNG, K.J. & BENNETT, J. E. *Cryptococcosis. Medical Mycology Philadelphia*, 8: 397-445, 1992.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO. *Tratado de Micologia Médica*. Sao Paulo: Sarvier, 416-435 p., 2002.

LAZERA MS, SALMITO CAVALCANTI MA, LONDERO AT, TRILLES L, NISHIKAWA MM, WANKE B. *Possible primary ecological niche of Cryptococcus neoformans*. Medl Mycol 38:379-383, 2000.

LEGNER, C. *O perigo pode estar a sua frente*. Revista Meio Filtrante. Ed. 76. Ano XIV. 2015. Disponível em <http://www.meiofiltrante.com.br/edicoes.asp?id=1026&link=ultima&fase=C&retorno=c>. Acesso em 10 Nov, 2017.

LEITE-JR, D.P., AMADIO J.V.R.S. MARTINS E.R., YAMAMOTO A.C.A, LEAL-SANTOS, F.A., TAKAHARA D.T, HAHN R.C. *Cryptococcus spp isolated from dust microhabitat in Brazilian libraries*. Journal of Occupational Medicine and Toxicology, 7:11, 2012.

LENGELER, K. B.; COX, G. M.; HEITMAN, J. *Serotype AD strains of Cryptococcus neoformans are diploid or aneuploid and are heterozygous at the mating-type locus*. Infection and Immunity, 69: 115-122, 2001.

LIMA C.T.; KALFKE G.B; XAVIER M.O. *Cryptococcus spp. in excreta of Columba livia (domestic pigeons) from a university hospital in southern Brazil*. Arq. Inst. Biol., São Paulo, 82, 1-4, 2015.

LIN X, HEITMAN J. *The Biology of the Cryptococcus neoformans Species complex*. Annu. Rev. Microbiol. 60: 69-105, 2006.

LINDBERG J, HAGEN F, LAURSEN A, STENDERUP J; BOEKHOUT T. *Cryptococcus gattii risk for tourists visiting Vancouver Island, Canada*. Emerg Infect Dis, 13: 178–79. 2007.

LOSS S.H; ANTONIO A.C.P; ROEHRIG C; CASTRO P.S; MACCARI J.G. *Meningitis and infective endocarditis caused by Rhodotorulamucilaginososa in an immunocompetent patient*. Rev Bras TerIntensiva. 23(4):507-509, 2011.

MARTINS L.M, WANKE B, LAZÉRA M.S, TRILLES L, BARBOSA G.G, MACEDO R.C, CAVALCANTI M.A, EULÁLIO K.D, CASTRO J.A, SILVA A.S, NASCIMENTO F.F, GOUVEIA V.A, MONTE S.J. *Genotypes of Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii as agents of endemic cryptococcosis in Teresina, Piauí (northeastern Brazil)*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 106(6):725-30, 2011.

MITCHELL, T. G.; PERFECT, J. R. *Cryptococcosis in the era of AIDS-100 years after the discovery of Cryptococcus neoformans*. Rev Clin. Microbiol, 8 (4): 515-548, 1995.

NEVES R.P; NETO R.G.L; LEITE M.C; SILVA V.K.A; SANTOS F.A.G; MACÊDO D.P.C. *Cryptococcus laurentii fungaemia in a cervical cancer patient*. Braz J InfectDis 19(6): 660-663, 2015.

OLAVE M.C; VARGAS-ZAMBRANO J.C; CELIS A.M; CASTAÑEDA E; GONZÁLEZ J.M. *Infective capacity of Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii in a human astrocytoma cell line*. Mycoses60 (7): 447–453, 2017.

PEDROSO R.S, PENATTI M.P.A, MAFFEI C.M.L, CANDIDO R.C. *Infecções causadas por Cryptococcus albidus e C. laurentii: Implicações Clínicas e Identificação Laboratorial*. Newslab, 102:96–104. 2010.

REOLON, A.; PEREZ, L. R. R.; MEZZARI, A. *Prevalência de Cryptococcus neoformans nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul*. J. Bras. Patol. Med. Lab., 40(5): 293-298, 2004.

RIBEIRO, A. M.; SILVA, L. K. R. E.; SCHRANK, I. S.; SCHRANK, A.; MEYER, MEYER, W.; VAINSTEIN, M. H. *Isolation of Cryptococcus neoformans var. neoformans serotype D from Eucalypts in South Brazil*. Medical Mycology, Abingdon, v. 44, n. 8, p. 707-713, 2006.

SEVERO C.B; GAZZONI A.F; SEVERO L.C. *Pulmonary Cryptococcosis*. J BrasPneumol. 35(11):1136-44, 2009.

SIDRIM JJC & ROCHA MFG. *Micologia Médica à luz de Autores Contemporâneos*. Ed. Guanabara Koogan S/A, cap. 9, 89-93, 2004.

SILVA, J. O.; CAPUANO, D. M. *Ocorrência de Cryptococcus spp e de parasitas de interesse em saúde pública, nos excretas de pombos na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil*. Rev Inst Adolfo Lutz, 67(2):137-141, 2008.

SIMÕES S.A.A; LEITE-JR D.P; HAHN R.C. *Fungal Microbiota in Air-Conditioning Installed in Both Adult and Neonatal Intensive Treatment Units and Their Impact in Two University Hospitals of the Central Western Region, Mato Grosso, Brazil*. Mycopathologia 172: 109–116. 2011.

SORRELL T.C. *Cryptococcus neoformans variety gattii*. Med Mycol; 39:155–68, 2001.

SPICKLER, A.R. (2013). "**Cryptococcosis**" Ficha técnica. (Last Updated). Disponível em <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>. Acesso em 10 Nov, 2017.

TAKAHARA, D.T.; LAZÉRA, M.S.; WANKE, B.; TRILLES, L.; DUTRA, V.; PAULA, D.A.J.; NAKAZATO, L.; ANZAI, M.C.; LEITE-JÚNIOR, D.P.; PAULA, C.R. & HAHN, R.C. *First report on Cryptococcus neoformans in pigeon excreta from public and residential locations in the metropolitan area of Cuiabá, State of Mato Grosso, Brazil*. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 55(6): 371-6, 2013.

TRILLES, L.; FERNANDEZ-TORRES, B.; LAZERA, M. S.; WANKE, B.; GUARRO, J. **In vitro antifungal susceptibility of Cryptococcus gattii**. J.Clin. Microbiol., 42 (10):4815-4817, 2004.

VALLABHANENI S; HASELOW D; LLOYD S; COCKHAR S; MOULTON-MEISSNER H; LESTER L; WHEELER G; GLADDEN L; GARNER K; DERADO G; PARK B; HARRIS J.R. *Cluster of Cryptococcus neoformans Infections in Intensive Care Unit, Arkansas, USA, 2013*. Emerg Infect Dis. 21(10): 1719-24, 2015.

YAMAMURA A.A.M; FREIRA R.L; YAMAMURA M.H; FELIX A, TARODA A. *Study of ecological niches from pathogenic yeasts of the species Cryptococcus neoformans and Cryptococcus gattii in Londrina City, PR*. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, 34(2): 793-804, 2013.