

IDENTIFICAÇÃO, RESISTÊNCIA E SENSIBILIDADE DE CEPAS DE *Cryptococcus neoformans* E DE *Candida sp.*, PRESENTES EM EXCRETAS DE POMBOS NO MUNICÍPIO DE PORTO VELHO, RO – BRASIL

IDENTIFICATION, RESISTANCE AND SENSITIVITY OF CEPOLS OF *Cryptococcus neoformans* AND OF *Candida sp.*, PRESENTS IN EXCRETA OF PIGEONS AROUND IN THE MUNICIPALITY OF PORTO VELHO, RO – BRAZIL

Elias Vitor de Moraes NEVES¹, Ana Beatriz Gomes FERREIRA¹, Edailson de Alcântara CORRÊA².

1. Discente do Curso Técnico Integrado em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia - IFRO. Campos Calama, Porto Velho – RO – Brasil.
2. Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia - IFRO. Campos Calama, Porto Velho – RO – Brasil.

* Autor correspondente: correa_bio@yahoo.com.br

RESUMO

O *Cryptococcus neoformans* é um fungo encapsulado, patogênico com estreita relação com *Columba sp.* Esta ave está associada à disseminação de diferentes agentes como *Cryptococcus*, *Histoplasma*, *Cândida* e bactérias da família *Enterobacteriaceae*. O *C. neoformans* é o agente etiológico da criptococose e é encontrado em diferentes fontes ambientais e constitui importante causa de morbidade e mortalidade em indivíduos imunodeprimidos. Esta pesquisa objetivou isolar, identificar e avaliar a sensibilidade de cepas de *C. neoformans*, bem como outras leveduras presentes em fezes de pombos encontradas no município de Porto Velho-RO em 2018. As excretas foram coletadas de forma direta, o isolamento foi em meio ágar Sabouraud Dextrose (CAF) seguidas da identificação por avaliação microscópica com uso da tinta da china, e posteriormente a confirmação e avaliação da sensibilidade com o Kit Fungifast. 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 de importância ecológica. O *C. neoformans* apresentou sensibilidade a Anfotericina B 2µg/ml e Variconazol 1µg/ml, e resistência a Anfotericina B 0,5µg/ml, 5-flucitosina 4 e 16µg/ml, Itraconazol 0,125 e 0,5µg/ml e Fluconazol 8 e 32µg/ml. Os dados também evidenciaram outras cepas de importância médica sensíveis a alguns dos antifúngicos testados e descritos na literatura. As leveduras de potencial patogênico oferecem riscos à saúde humana no município. Os dados podem contribuir nas futuras estratégias terapêuticas, bem como no controle dessas aves.

Palavras-chave: *Cryptococcus neoformans*, Resistência, Sensibilidade.

ABSTRACT

The *Cryptococcus neoformans* is an encapsulated pathogenic fungus in a close correlation with *Columba sp.* This bird is associated with the spread of different agents as *Cryptococcus*, *Histoplasma*, *Candida* and bacteria of the family *Enterobacteriaceae*. The *C. neoformans* is the Etiologic Agent of Cryptococcosis and it is found in different environmental sources and represents an important cause of morbidity and mortality in immunocompromised individuals. This research aimed to isolate, identify and evaluate the sensitivity of strains of *C. neoformans*, as well as other yeasts present in pigeon droppings found in the city of Porto Velho-RO in 2018. The excreta were collected directly; the isolation was in Sabouraud Dextrose Agar (CAF) followed by microscopic identification using China ink, and later confirmation and evaluation of sensitivity with the Fungifast Kit. The results revealed the presence of *C. neoformans* in 01 (16%) of points, of *Candida sp.* in four (66%) 06 (100%) points collected. In addition to these, filamentous fungi were identified from ecological importance. The *C. neoformans* showed sensitivity to Amphotericin B 2µg and 1µg/ml, Voriconazole/ml, and resistance to Amphotericin B 0.5 µg/ml, 5-4 and 16µg/ml Flucytosine, Itraconazole 0.125 and 0.5 µg/ml and Fluconazole 8 and 32µg/ml. The data also showed other strains of sensitive medical importance to some of the tested antifungals and described in the literature. Yeasts of pathogenic potential may pose a health risk to humans in the city. These data may contribute to some future therapeutic strategies, as well as in the control of these birds.

Keywords: *Cryptococcus neoformans*, Resistance, Sensitivity.

1. INTRODUÇÃO

O *Cryptococcus neoformans* é o agente responsável por infecções sistêmicas em imunodeprimidos Ribeiro et al. [1]. São relatados 57 doenças, como a criptococose, associadas aos pombos [2]. Os riscos de contaminação em humanos e outros animais estão, normalmente, relacionados ao acúmulo de fezes dos pombos em monumentos e em moradias [3]. Adicionalmente, a limpeza das excretas e restos de ninhos é dispendiosa podendo provocar contaminações em fontes de água e alimentos [4].

Inicialmente o *C. neoformans* foi chamado de *Saccharomyces neoformans*, pois carecem de fermentação de carboidratos e formação de ascósporos, características marcantes do *Saccharomyces spp.* Novas revisões o incluíram na Classe *Bastomycetes*, família *Cryptococcaciae*, gênero *Cryptococcus*, espécie *Cryptococcus neoformans*, com presença de fase assexuada como a sexuada, esférica ou globosa (com 20µm), com parede nítida [5]. Apresentando antígenos moleculares específicos da cápsula mucopolissacarídeo o qual possibilita dividi-los em três variedades e em cinco sorotipos, sendo o sorotipo A pertencente à variedade *grubii* [6], o sorotipo D à variedade *neoformans*, e B e C à variedade *gattii* [6,7]. Através desta classificação, a designação para o sorotipo AD com características específicas e definidas [8,9], entretanto, alguns autores o consideram híbrido [10], denotando diferenças genotípicas, bioquímicas, epidemiológicas e clínicas específica [7,11]. O sorotipo D, var. *neoformans* estão presentes, na maioria das vezes, com excretas acumuladas de aves, principalmente pombos domésticos [12,13]. Enquanto, que o *C. gattii* ao eucalipto [14] e troncos ocos de várias espécies de árvores em degradação [15,16].

O *C. neoformans* possui capacidade parasita relacionada à sua cápsula polissacarídica que atua como resistência à fagocitose e baixa na resposta imunológica [17] provocando a criptococose, pela inalação dos propágulos fúngicos presentes no ar que infectam o pulmão - sítio anatômico da infecção [18]. Além disso, na doença de Busse e Buschke, apresentam leveduras com tropismo pelo sistema nervoso central (SNC), respiratório e tegumentar, o comprometimento do sistema imune, tanto de pessoas sadias como de imunocomprometidos associados [19,20]. Outra levedura de risco à saúde é a *Candida* que, embora sejam comensais em humanos, podem, em situações de imunodebilidade, causar doenças em diversos sítios anatômicos [21]. Assim, esta pesquisa objetivou levantar, identificar e avaliar a sensibilidade

do *C. neoformans* e de outras leveduras isoladas no perímetro urbano da cidade de Porto Velho-RO em 2018.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado no perímetro urbano do município de Porto Velho – RO, entre os meses de agosto a novembro de 2018 nos pontos (A-E) unidades escolares e (F) de saúde. Os procedimentos de coleta das excretas (5 a 10 g), com adaptações, seguiram as orientações técnicas de Faria et al. [22]. A área de estudo situa-se na margem direita do rio Madeira, com uma área superior a 34.090,962 [km²](#) mil Km² e cerca de 519.531 habitantes [23], posicionada em 8° 45' 43" S, 63° 54' 14" W com altitude de 85 metros e temperatura em torno de 26° C e pluviosidade média anual de 2.095 mm. As excretas, secas e úmidas, provenientes de *Columba livia* (pombo-doméstico) foram acondicionadas e levadas para o laboratório de Microbiologia e Parasitologia do Instituto Federal de Rondônia – IFRO, campus Calama, para análises seguindo as orientações de Ribeiro et al. [1], e envolveram trituração e homogeneização com pistilo de porcelana. Posteriormente, 0,5g da amostra foi suspensas em 10 ml de solução de NaCl à 0,9% seguido da homogeneização em vortex por 3 min, e mantidas em repouso de 30 min em temperatura ambiente.

Após este período, frações de 100µl do sobrenadante de cada ponto de coleta, seguindo orientações do método descrito por Casali et al. [11], foram semeados em placas para isolamento e identificação. O cultivo, realizado em triplicata em ágar Sabouraud Destrose (CAF), foi acondicionado em estufa à 30° C por 5 dias. A identificação, adaptadas de Ribeiro et al. [1], foi realizada com exame direto das leveduras e dos fungos filamentosos a partir da suspensão oriunda das culturas, 100 µl, que foi misturado a 50 µl de tinta nanquim em lâminas, sobrepostas por lamínulas e visualizadas em microscópio óptico em 400 e 640X. As colônias com perfil foram isoladas, identificadas e avaliadas quanto à sensibilidade com o uso do Kit Fungifast da Elitech Microbio - Ref. 44430, entre 24 e 72 h. Os procedimentos da análise e interpretações dos resultados seguiram as orientações do fabricante.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram observados fungos com risco à saúde, de importância ecológica e biotecnológica. Identificou-se, além do *C. neoformans*, cepas de *Candida tropicalis*; *C. guilliermondii*; *C. parapsilosis*; *C. krusei*; *Saccharomyces cerevisiae*; *Penicillium sp*; *Rhizopus sp.* e *Aspergillus sp.* (Fig.01 A – C) e (Tab.: 01). E, a sensibilidade das leveduras foi realizada com os

antifúngicos anfotericina B nas concentrações de 0,5 e 2µg/ml; 5-flucitosina a 2 e 4µg/ml; itraconazol a 0,125µg/ml e 0,5µg/ml; fluconazol a 8 e 32µg/ml e variconazol a 1µg/ml, os resultados mostraram que *C. neoformans*, isolado, apresentou a sensibilidade aos antifúngicos a anfotericina B 2µg/ml e variconazol e resistência aos 1µg/ml e resistência a anfotericina B 0,5µg/ml, 5-flucitosina 4 e 16µg/ml, itraconazol 0,125 e 0,5µg/ml e fluconazol 8 e 32µg/ml. Os diferentes gêneros e cepas *Candida* apresentaram perfis distintos (Tab.: 01).

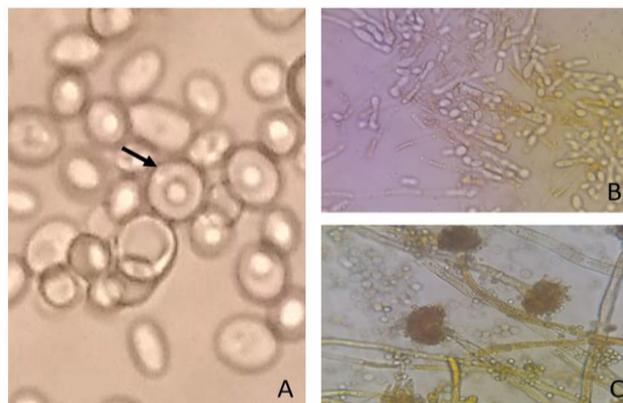


Fig.01: Mostra diferentes fungos evidenciados na pesquisa. Em A – leveduras com perfil de *C. neoformans*. Em B cepas de *Candida sp. e*, em C - fungos filamentosos com perfil de *Aspergillus sp.* Imagens obtidas em microscopia - 640 X.

Tabela 01: Distribuição, análise das cepas de leveduras identificadas, perfil de sensibilidade e resistência aos antifúngicos testados no município de Porto Velho - RO em 2018.

Ord.	Pontos	*Cepas Identificadas	Resistência - 72h.	Sensibilidade - 72h.
1	A	a1 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	+
2	B	a1 <i>Candida tropicalis</i> <i>Candida sp.1</i>	- -	+ +
3	C	a1 <i>Cryptococcus neoformans</i>	Anfotericina B 0,5µg/ml; 5-flucitosina 4 e 16µg/ml; Itraconazol 0,125 e 0,5µg/ml; Fluconazol 8 e 32µg/ml.	Anfotericina B 2µg/ml Variconazol 1µg/ml
		a1 <i>Candida sp.2</i>	Itraconazol 0,125µg/ml	Anfotericina B 0,5 e 2µg/ml; 5-flucitosina 4 e 16µg/ml; **Itraconazol 0,5µg/ml; Fluconazol 8 e 32µg/ml; Variconazol 1µg/ml.
		a1 <i>Candida guilliermondii</i>	5-flucitosina 16µg/ml	Anfotericina B 0,5 e 2µg/ml; ** 5-flucitosina 4µg/ml; Itraconazol 0,125µg/ml e 0,5µg/ml; Fluconazol 8 e 32µg/ml; Variconazol 1µg/ml.
4	D	a1 <i>Candida parapsilosis</i>	Anfotericina B 0,5µg/ml; Itraconazol 0,125/ml; Itraconazol 0,5µg/ml;	** Anfotericina B 2µg/ml; 5-flucitosina 4 e 16µg/ml; Fluconazol 32µg/ml;

Fluconazol 8µg/ml.

Variconazol 1µg/ml.

* **Itens a1:** Cepas de fungos em formas de leveduras;

Resistência: não houve crescimento de leveduras na presença do antifúngico;

Sensibilidade: Antifúngicos que inibiram o crescimento das cepas (cepas resistentes);

+ Sensível a todos os antifúngicos testados;

- Não resistente a todos os antifúngicos testados.

** Sensibilidade e resistência imprecisa segundo dados do Kit.

O registro do *C. neoformans*, em excretas de pombos, no município é um dado relevante e corrobora com os registros observados em diferentes cidades do Brasil como os observados por Contin et al. [2] na cidade de Caratinga, MG, em Pelotas-RS, por Faria et al. [22] e, em Manaus, por Alves et al. [24]. Ressalta-se que, embora os mecanismos de disseminação do *C. neoformans* não tenham sido avaliados neste estudo, este não é completamente esclarecido, há inúmeros registros associados a excrementos de *C. livia*. Entretanto, na relação entre parasito hospedeiro, há poucos registros das patogenias – criptococose - nessas aves, fato que pode estar associado à resistência aos mecanismos de infecção do fungo – a temperatura corporal elevada [18]. Por outro lado, a infecção em humanos por *C. neoformans* var. *neoformans* pode ocorrer através da inalação dos propágulos do ambiente, na forma de leveduras, menores que 2µm de diâmetro presentes nas fezes desses animais [25]. Assim, estudos adicionais sobre a presença e sensibilidade, como este, corroboram com os processos de prevenção dos riscos e tratamentos eficientes.

As técnicas aplicadas neste estudo permitiram, além do isolamento e identificação de leveduras de *C. neoformans*, a identificação de *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Candida sp.*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* (Tabela 01) e dos fungos filamentosos *Aspergillus sp.*, *Monascus ruber*, *Metarhizium anisopliae* (Não tabulados). Dados da literatura científica mostram diversos fungos oportunistas causadores de infecções sistêmicas (IFS) com difíceis diagnósticos relacionados à mortalidade e morbidade e que constituem um problema de saúde pública. Dentre eles, citam-se os *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans* e de outras espécies como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis* e *Trichosporon spp.*, que começam a prevalecer nesses processos de infecção, como já citados por Arendrup [26]. Destes, vários desses agentes foram observados neste estudo. Adicionalmente, registraram-se dois fungos que apresentam potenciais biotecnológicos, o *S. cerevisiae*, mencionado, entre outros estudos, por Schenberg [27] e o *M. anisopliae* por Schrank e Vainstein [28].

Quanto à sensibilidade *in vitro*, de acordo com Casto et al. [29], observa-se o aumento no número de antimicóticos comercialmente disponíveis nos últimos anos. No entanto, estes ainda se encontram em desvantagem, quando comparados às drogas antibacterianas. Além

disso, a análise da resistência aos antifúngicos tem representado um grande desafio para os processos clínicos. No caso das cepas de *C. neoformans*, à mesma mostrou-se, nos testes realizados, sensíveis aos anfotericina B 2µg/ml e variconazol 1µg/ml. No caso das outras leveduras, cepas isoladas de *Candida tropicalis* e da *Candida sp.1*, foram sensíveis aos antifúngicos testados. A espécie *C. guilliermondii* apresentou sensibilidade à anfotericina B 0,5 e 2µg/ml, itraconazol 0,125µg/ml e 0,5µg/ml; fluconazol 8 e 32µg/ml; variconazol 1µg/ml e a estirpe de *C. parapsilosis* apresentou sensibilidade a 5-flucitosina 4 e 16µg/ml; fluconazol 32µg/ml; variconazol 1µg/ml.

Embora estudos evidenciem que isolados de *C. neoformans* apresentam suscetibilidade *in vitro* a diferentes antifúngicos [30] a resistência de cepas desta levedura a alguns tipos de antifúngicos *in vitro* é pouco frequente, embora haja relatos [31]. Neste estudo, as cepas isoladas mostraram resistências a anfotericina B 0,5µg/ml; 5-flucitosina 4 e 16µg/ml; itraconazol 0,125 e 0,5µg/ml; fluconazol 8 e 32µg/ml. Dados de resistências já foram obtidos por Silva et al. [32], em trabalhos realizados no Triângulo Mineiro – MG observou, em isolados clínicos, a resistência ao itraconazol, diferentes e a anfotericina B e, para este último, mostrou-se similar ao observado no trabalho. Adicionalmente, estudos *in vitro* mostraram que, os isolados de *Cryptococcus* são em sua grande maioria, sensíveis aos antifúngicos poliênicos - anfotericina B; anfotericina B formulação lipossomal; 5-fluocitosina; e aos azólicos - fluconazol; itraconazol, voriconazol e posaconazol [33], como anfotericina B 2µg/ml e variconazol 1µg/ml, neste estudo.

Quanto a sensibilidade para a *Candida sp.*, agente de importância a saúde, estudos de Demillto *et al.* (2012), realizado com isolados de amostras clínicas, sendo 38 *Candida albicans*, 23 *C. tropicalis*, 10 *C. parapsilosis* e quatro *C. krusei* mostraram que, para estas cepas, os antifúngicos anfotericina B, voriconazol e anidulafungina foram eficazes. Dados com certas similares são observados neste estudo e mostram sensibilidade a 5-flucitosina 4 e 16µg/ml; fluconazol 32µg/ml; variconazol 1µg/ml para *Candida parapsilosis* e, para *C. guilliermondii*, sensibilidade ao outros antifúngicos, exceto para o 5-flucitosina 16µg/ml, assim como para *Candida sp.2*, com resistência apenas para o itraconazol 0,125µg/ml.

Os testes de suscetibilidade aos antifúngicos ainda não são aceitos e não podem ser utilizados na rotina da prática médica, como mencionado Rex et al. [34], ou seja, podem não demonstrar a realidade fisiológica dos fungos como hospedeiro. Entretanto, essas provas vêm demonstrando atividades laboratoriais “*in vitro*” importantes e os dados podem orientar, de certa forma, o tratamento clínico. Além disso, os resultados encontrados trazem luz à questão

da importância de minimizar-se o risco de exposição a focos ambientais da levedura em locais de circulação pública e abrem interessantes perspectivas sobre a ecologia do *C. neoformans* e epidemiologia da criptococose, bem como outras leveduras causadoras de micoses sistêmicas, pois a ausência de uma política de controle ambiental urbana traz riscos e desafios à saúde pública.

CONCLUSÃO

A pesquisa evidenciou a presença de cepas de *Cryptococcus neoformans* e de outras leveduras do gênero *Candida*, sua a sensibilidade aos principais antifúngicos, bem como a presença de fungos filamentosos em amostras de fezes de *Columba livia* no município de Porto Velho-RO em 2018. Os resultados corroboram para a implantação de estratégias no controle da população dessas aves minimizando riscos de contaminações seres humanos em escolas e hospitais e, em especial, aos imunodeprimidos em tratamento na região.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Rondônia – IFRO e às unidades de ensino e saúde do município, pela colaboração na pesquisa do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia do Campus Calama.

REFERÊNCIAS

- [1] RIBEIRO, M.F.P.; SILVA, A.M.; FERNANDES, W.S.; MELLO, M.M. Isolamento de *Cryptococcus neoformans* em fezes de pombos (*Columba livia*) em praças públicas de São José dos Campos-SP. **J Health Sci Inst**, v. 35, p. 23-7, 2017.
- [2] CONTIN, J.T.; QUARESMA, G.S.; SILVA, E.F.; LINARDI, V.R. Ocorrência de *Cryptococcus neoformans* em fezes de pombos na cidade de Caratinga, MG – Brasil. **Rev Med Minas Gerais**, v. 21, p. 19-24, 2011.
- [3] SCHULLER, M. Pombos Urbanos - um caso de saúde pública. **SBCC**, v. 19, p. 32-7, 2005.
- [4] NUNES, V.F.P. Palestra: Pombos urbanos - o desafio de controle. **Inst Biol**, v. 65, p. 89-92, 2003.
- [5] KNOW-CHUNG, K.J.; BENETT, J.E. *Cryptococcosis*. In: Camilo-Coura, L; Febiger (eds). **Medical Micology**. Philadelphia, p. 397-446, 1992.
- [6] FRANZOT, S.P.; SALKIN, I.F.; CASADEVALL, A. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*: separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype a isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 838-40, 1999.

- [7] SORRELL, T.C. *Cryptococcus neoformans* variety gattii. **Medical Mycology**, v. 39, p. 155-68, 2001.
- [8] 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**, v. 69, p. 115-22, 2001.
- [9] SEVERO, C.B.; GAZZONI, A.F.; SEVERO, L.C. Capítulo 3 - Criptococose pulmonar. **J bras pneumol**, v. 35, n.11, 2009.
- [10] BOEKHOUT, T.; THEELAN, B.; DIAS, M.; FELL, J.W.; HOP, W.C.J.; ABELN, E.C.A.; DROMER, F.; MEYER, W. Hybrid genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. **Microbiologu**, v.147, p. 891-907, 2001.
- [11] CASALI, A.K.; STAATS, C.C.; SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M.H. *Cryptococcus neoformans*: aspectos moleculares e epidemiológicos. **Biociencia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 20, p. 34-37, 2001.
- [12] KOBAYASHI, C.C.; SOUZA, L.K.; 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 Goiânia, Goiás, Brazil. **Rev Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, n.4, p. 203-7, 2005.
- [13] CORREA, E.A.; NACONECHNY, F.; CASAGRANDE, L.P. Presença de *Cryptococcus neoformans* em excretas de *Columba sp.* na cidade de Cacoal, Rondônia, Brasil. **Rev IGAPÓ – IFAM**, v. 5, n.1, 2011.
- [14] ELLIS, D.H.; PFEIFFER, T.J. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. gattii. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 28, p. 1642-4, 1990.
- [15] LAZÉRA, M.S.; CAVALCANTI, M.A.S.; TRILLES, L.; NISHIKAWA, M.M.; WANKE, B. *Cryptococcus neoformans* var. gattii – evidence for a natural habitat related to decaying wood in a pottery tree hollow. **Rev Medical Mycology**, v. 36, p. 119-22, 1998.
- [16] GRANADOS, D.P.; CASTAÑEDA, E. Isolation and characterization of *Cryptococcus neoformans* varieties recovered from natural sources in Bogotá, Colombia, and study of ecological conditions in the area. **Microbial Ecology**, v. 49, p. 282-90, 2005.
- [17] PEDROSO, R.S.; COSTA, K.R.C.; FERREIRA, J.C.; CANDIDO, R.C. Avaliação da produção de melanina por espécies de *Cryptococcus* em quatro diferentes meios de cultura. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 40: p. 566-8, 2007.
- [18] REOLON, A.; PEREZ, L.R.R.; MEZZARI, A. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da Cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n.5, p. 293-298, 2004.
- [19] CASADEVALL, A.; PERFECT, J.R. **Cryptococcus neoformans**. Washington, D.C: American Society for Microbiology Pres, 1998.

- [20] PAPPALARDO, M.C.S.M.; MELHEM, M.S.C. Cryptococcosis: a review of the Brazilian experience for the disease. **Rev Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, n.6, p. 299-305, 2003.
- [21] FONZI, A; CALDERONE, R.A. Virulence factors of *Candida albicans*. **Trends in Microbiology**, v. 9, p. 327-335, 2001.
- [22] FARIA, R.O.; NASCENTE, O.S.; MEINERZ, A.R.M.; CLEFF, M.B.; ANTUNES, T.A.; SILVEIRA, E.S.; NOBRE, M.O.; MEIRELES, M.C.A.; MELLO, J.R.B. Ocorrência de *Cryptococcus neoformans* em excretas de pombos na Cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 43, n.2, p. 198-200, 2010.
- [23] **IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2018. População Estimada e Área da Unidade territorial 2018. Porto Velho - RO: IBGE.**
- [24] ALVES, G.S.B.; FREIRE, A.K.L.; PINHEIRO, J.F.S.; SOUZA, J.V.B.; MATSUURA, A.B.J. Presença de *Cryptococcus neoformans* (Sanfelice) Vuillemin (Tremallales: Filobasidiaceae) em excretas de pombos na cidade de Manaus-AM. **Rev de Educação, Ciência e Tecnologia do IFAM**, v. 7, n.1, 2013.
- [25] WICKES, B.L.; MAYORGA, M.E.; EDMAN, U.; EDMAN, J.C. Dimorphism and haploid fruiting in *Cryptococcus neoformans*: association with the a-mating type. **Rev Proceeding of the National Academy of Science**, v. 93, n.4, p. 7327-31, 1996.
- [26] ARENDRUP, M.C. Epidemiology of invasive candidiasis. **Rev Curr Opin Crit Care**, v.16, p. 445-452, 2010.
- [27] SCHENBERG, A.C.G. Biotecnologia e desenvolvimento sustentável. **Rev Estud**, v. 24, n.70, 2010.
- [28] [SCHRANK, A.](#); [VAINSTEIN, M.H.](#) *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. **Rev Toxicon**, v. 56, p. 1267-1274, 2010.
- [29] CASTRO, T L.; COUTINHO, H.D.M.; GEDEON, C.C.; SANTOS, J M.; SANTANA, W J.; SOUZA, L B S. **Mecanismos de resistência da Candida sp a antifúngicos Infarma**, v.18, 2006.
- [30] SPEED, B.; DUNT, D. Clinical and host differences between infections with the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 21, p. 28-34, 1995.
- [31] SOUZA, L.K.H.; FERNANDES, O.F.L.; KOBAYASHI, C.C.B.A.; PASSOS, X.S.; COSTA, C.R.; LEMOS, J.Á.; SOUZA-JÚNIOR, A.H.; SILVA, M.R.R. Antifungal Susceptibilities of Clinical and Environmental Isolates of *Cryptococcus neoformans* in Goiânia City, Goiás, Brazil. **Rev Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, p. 253-256, 2005.
- [32] SILVA, P.R.; RABELO, R.A.S.; TERRA, A.P.S.; TEIXEIRA D.N.S. Suscetibilidade a antifúngicos de variedades de *Cryptococcus neoformans* isoladas de pacientes em hospital universitário. **Rev Soc. Bras. Med. Trop**, v. 41, p. 159-162, 2008.

[33] PITISUTTITHURM, P.; NEGRONI, R.; GRAYBILL, J.R.; BUSTAMANTE, B.; PAPPAS, P.; CHAPMAN, S.; HARE, R.S.; HARDALO, C.J. Activity of posaconazole in the treatment of central nervous system fungal infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 56, p. 745-755, 2005.

[34] REX, J.H.; PFALLER, M.A.; GALGIANI, J.N.; BARTLETT, M.S.; ESPINEL-INGROFF, A.; GHANNOUM, M.A.; LANCASTER, M.; ODDS, F.C.; RINALDI, M.G.; WALSH, T.J.; BARRY, A.L. Development of interpretative “breakpoints” for antifungal susceptibility testing: conceptual framework and analysis of in vitro- in vivo correlation data for fluconazole, itraconazole and *Candida* infections. Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing of the NCCLS. **Clin Infect Dis**, v. 24, p. 235-47, 1997.