

ISOLAMENTO DE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* DE EXCRE- MENTOS E NINHOS DE POMBOS (*COLUMBA LIVIA*) EM SALVADOR, BAHIA (BRASIL)

Manuel E. SILVA ⁽¹⁾ e Luiza A. PAULA ⁽²⁾

RESUMO

O isolamento, efetuado com sucesso em ambos os casos, permitiu o diagnóstico de *C. neoformans* mediante cultura, testes de fermentação e comprovação da virulência por inoculação em camundongos.

INTRODUÇÃO

Os dados até hoje conhecidos acêrca da biologia do *Cryptococcus neoformans* fazem crer que êsse fungo, à semelhança de outros, produtores de micoses profundas, seja primeiramente um cogumelo saprófita de vida livre em a natureza ¹¹. Foi isolado como saprófita de suco de frutas por SANFELICE ^{apud} ², em 1894, e de leite por KLEIN ¹⁰, em 1901, e CARTER & YOUNG ⁴, em 1950.

Em 1951, EMMONS ⁵ isolou-o pela primeira vez a partir de solo. Estudos posteriores ^{1, 8, 13, 14} revelaram não ser infreqüente a presença do *C. neoformans* em solos, principalmente aquêles enriquecidos por excrementos de aves.

EMMONS ⁷, em 1955, chama a atenção para a freqüência com que amostras virulentas de *C. neoformans* podiam ser isoladas de fezes ou ninhos de pombos, demonstrando que o fungo pode viver saprofiticamente em estêrco daquelas aves e ser facilmente isolado daquele substrato. Logo depois seus achados foram confirmados não só nos Estados Unidos ^{6, 9, 12} como também no Japão ^{apud} ⁶.

Na Bahia, amostras virulentas de *C. neoformans* foram isoladas de solo ¹⁴, mas ne-

nhuma delas em locais habitados ou freqüentados por pombos.

O presente trabalho tem por finalidade referir o isolamento de *Cryptococcus neoformans* a partir de ninhos e excrementos de pombos em Salvador, Bahia.

MATERIAL E METODOS

As amostras que deram lugar ao isolamento de *C. neoformans* foram colhidas em um compartimento de aproximadamente 9 m², pertencente ao conjunto do biotério da Fundação Gonçalo Moniz. Êste compartimento é unicamente destinado à criação de pombos, que são usados para alimentar triatomíneos com os quais são feitos os xenodiagnósticos na Bahia.

Duas amostras foram colhidas separadamente em frascos esterilizados, de boca larga, fechados com rôlha de cortiça, com o auxílio de pinça ou espátula esterilizadas. Uma delas constava de ninhos de pombos (palthas, de mistura com excrementos das aves, penas, etc.) e outra, de excrementos colhidos do piso ladrilhado do compartimento onde as aves são criadas, e da parte supe-

Fundação Gonçalo Moniz — Salvador (Bahia).

(1) Chefe da Seção de Micologia.

(2) Assistente da Seção de Micologia.

rior das caixas de madeira que servem de ninho.

As amostras foram processadas segundo técnica descrita por EMMONS e modificada por AJELLO¹, que, em resumo, consta da inoculação intraperitoneal em camundongos de suspensões do material em solução salina adicionada de penicilina e estreptomicina; depois de algumas semanas os animais são sacrificados e fragmentos de fígado e baço semeados em ágar-Sabouraud glicosado.

No presente estudo, foram usados cinco camundongos para cada amostra.

Depois de 15 dias os tubos de meio de cultura semeados apresentavam colônias de um fungo leveduriforme de cor creme, lembrando culturas de *Cryptococcus neoformans*.

Subculturas foram feitas em ágar-Sabouraud glicosado adicionado de penicilina e estreptomicina, com o fito de eliminar alguma possível contaminação bacteriana, e incubadas a 37°C.

Várias provas foram então efetuadas para identificação do cogumelo: verificação de filamentação foi feita em ágar-farinha de milho; provas de assimilação de carboidratos e de nitratos, segundo a técnica de BEIJERINCK, como descrito por BENHAM²; glicose, maltose, sacarose, galactose e lactose foram usados nos testes de fermentação de carboidratos.

Emulsões das culturas em salina foram inoculadas intraperitonealmente em camundongos, e estes autopsiados 6 semanas depois para verificação da patogenicidade das amostras.

Uma cultura proveniente de caso humano de criptococose serviu de testemunho em todas as provas.

RESULTADOS

Cryptococcus neoformans foi isolado de ambas as amostras coletadas de ninhos e excrementos de pombos.

A semeadura de fragmentos de fígado e baço de 8 dos 10 camundongos resultaram no crescimento de colônias de *Cryptococcus*;

os outros dois animais morreram aos 15 e 17 dias da inoculação sem que fosse possível autopsiá-los.

Todas as culturas cresceram bem em ágar-Sabouraud a 37°C. Macroscopicamente apresentavam colônias de aspecto mucóide, de cor creme quando jovens, tornando-se mais escuras com a idade. Microscopicamente apresentavam células arredondadas, multiplicando-se por gemação e circundadas por uma cápsula gelatinosa. Não produziram filamentação quando cultivadas em ágar-farinha de milho. Com exceção de uma, que foi separada para posterior estudo, todas elas não demonstraram poder fermentativo para a glicose, maltose, sacarose, galactose e lactose, porém produziram ácido, vagarosamente, em glicose e maltose. Uma das culturas também produziu ácido em sacarose.

Glicose, maltose, sacarose e galactose foram assimilados, porém não a lactose. Nitrato de potássio também não foi assimilado.

As culturas de *Cryptococcus* mostraram-se bastante virulentas para camundongos; nos cérebros dos animais inoculados intraperitonealmente com suspensão salina das culturas, foram evidenciadas células arredondadas com grande cápsula gelatinosa, ao exame direto entre lâmina e lamínula com o auxílio da Tinta da China.

Retroculturas a partir daquele órgão foram positivas em todos os casos e os cortes histológicos revelaram lesões típicas de criptococose cerebral, com grande número de células de *C. neoformans*.

DISCUSSÃO

O isolamento de amostras virulentas de *Cryptococcus neoformans* associadas a excrementos de pombos, no Brasil, vem confirmar a larga distribuição geográfica dessa associação, já lembrada por EMMONS⁶ e LITTMAN & SCHNEIERSON¹².

Evidência vem sendo acumulada de que excrementos de pombos, principalmente em ambientes cobertos¹², são freqüentemente positivos para *C. neoformans*, constituindo-se

assim um reservatório de onde o homem provavelmente poderá adquirir infecção.

Tendo entrada no organismo através o aparelho respiratório, o *C. neoformans* na grande maioria dos casos produz uma infecção pulmonar benigna que regride, conferindo imunidade ao paciente⁶. No entanto, em indivíduos susceptíveis, ou após uma exposição muito grande ao material contaminado, a infecção progride, terminando pelo comprometimento do sistema nervoso central, razão pela qual o contacto íntimo ou prolongado com material rico em excrementos de pombos deve ser evitado, como também medidas de precaução devem ser recomendadas para aqueles que lidam com essas aves.

SUMMARY

Isolation of Cryptococcus neoformans from pigeon (Columba livia) nests and pigeon droppings in Salvador (Bahia, Brazil).

Successful isolation, in both cases, have permitted identification of *C. neoformans* in culture media and fermentation tests. Inoculation in mice proved it to be a virulent strain.

REFERÊNCIAS

1. AJELLO, L. — *Histoplasma capsulatum* soil studies. Mykosen 3:43-48, 1960.
2. AJELLO, L. — Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in soils. Amer. J. Hyg. 67:72-77, 1958.
3. BENHAM, R. W. — The genus *Cryptococcus*: the present status and criteria for the identification of species. Trans. N. Y. Acad. Sci., Ser. II 17:418-429, 1955.
4. CARTER, H. S. & YOUNG, J. L. — Note on the isolation of *Cryptococcus neoformans* from a sample of milk. J. Path. Bact. 62: 271-273, 1950.
5. EMMONS, C. W. — Isolation of *Cryptococcus neoformans* from soil. J. Bact. 62: 685-690, 1951.
6. EMMONS, C. W. — Prevalence of *Cryptococcus neoformans* in pigeon habitats. Public Health Rep. 75:362-364, 1960.
7. EMMONS, C. W. — Saprophytic sources of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columba livia*). Amer. J. Hyg. 62:227-232, 1955.
8. EMMONS, C. W. — The significance of saprophytism in the epidemiology of the mycoses. Trans. N. Y. Acad. Sci., Ser. II 17:157-166, 1954.
9. KAO, C. J. & SCHWARZ, J. — The isolation of *Cryptococcus neoformans* from pigeon nests. Amer. J. Clin. Path. 27:652-663, 1957.
10. KLEIN, E. — Pathogenic microbes in milk. J. Hyg. 1:78-95, 1901.
11. LITTMAN, M. L. — Cryptococcosis (Torulosis) — Current concepts and therapy. Amer. J. Med. 27:976-998, 1959.
12. LITTMAN, M. L. & SCHNEIERSON, S. S. — *Cryptococcus neoformans* in pigeon excreta in New York City. Amer. J. Hyg. 69:49-59, 1959.
13. McDONOUGH, E. S.; AJELLO, L.; AUSERMAN, R. J.; BALOWS, A.; McCLELLAN, J. T. & BRINKMAN, S. — Human pathogenic fungi recovered from soil in an area endemic for North American Blastomycosis. Amer. J. Hyg. 73:75-83, 1961.
14. SILVA, M. E. — Ocorrência de *Cryptococcus neoformans* e *Microsporium gypseum* em solos da Bahia, Brasil. Bol. Fund. Gonçalo Moniz n.º 17, julho 1960.

Recebido para publicação em 28 agosto 1962.

