

ISOLAMENTO DE *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* DE OCOS DE ÁRVORES VIVAS NA CIDADE DE ALFENAS, MG, BRASIL.

REIMÃO JQ¹, DRUMMOND ED¹, TERCETI MS¹, LYON JP², CRISTO CG², FRANCO MC¹, SIQUEIRA AM¹

¹Universidade Federal de Alfenas

²Universidade do Vale do Paraíba; Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento

Resumo- *Cryptococcus neoformans* é uma levedura encapsulada, agente etiológico da criptococose. Seu isolamento está comumente associado a fezes de pombos e vegetais em decomposição. No presente trabalho, 54 amostras foram isoladas de ocos de árvores. As amostras foram identificadas por mating type (MAT) e sorotipo.

Palavras-chave: *Cryptococcus neoformans*, ocos de árvores vivas, Habitat, Mating type, sorotipo, madeira em decomposição.

Área do Conhecimento: Saúde

Introdução

Cryptococcus neoformans é uma levedura encapsulada, agente etiológico da criptococose. A espécie inclui as variedades *neoformans* (sorotipos A, D e A/D) e *gattii* (sorotipos B e C). Recentemente foram propostas a variedade *grubii* (sorotipo A) e a nova espécie *C. bacillispora* (var. *gattii*) (BARRETO et al., 2004)

Considerando-se o *C. neoformans* como um importante patógeno humano cujo habitat primário permanece desconhecido, o presente trabalho teve por objetivo investigar a ocorrência dessa levedura em material coletado do oco de árvores vivas na cidade de Alfenas. O sorotipo e o mating type (MAT) das amostras também foi determinado.

Metodologia

Dezoito árvores vivas com ocos foram selecionadas para análise. Três amostras foram coletadas de cada árvore, totalizando 54 amostras. As árvores pertenciam às espécies *Caesalpinia peltophoroides* (oito árvores), *Anadenanthera peregrina* (três árvores), *Ligustrum* sp (quatro árvores), *Tibouchina candolleana* (duas árvores) e *Chorisia speciosa* (uma árvore). As árvores se localizavam no campus da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). As amostras foram obtidas por arranhadura da superfície interna (Partes posterior e superior) do oco com uma espátula esterilizada.

As amostras foram levadas imediatamente para o laboratório de micologia para processamento. Amostras que apresentaram pigmentação marrom quando cresciam em agar Niger foram isoladas e

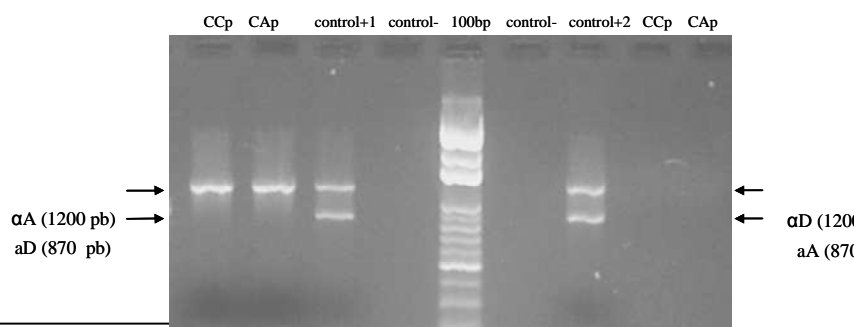
observadas para verificação da presença de cápsula, produção de uréase, crescimento a 37°C, assimilação de fontes de carbono e não assimilação de nitrato de potássio (LACAZ et al., 1991)

O DNA das amostras foi extraído e as amostras foram amplificadas por PCR multiplex utilizando os iniciadores JOHE7264/7265 e JOHE7273/7275 e JOHE7270/7272 and JOHE7267/7268, para determinação simultânea do sorotipo e do MAT. Os resultados da PCR após eletroforese foram comparados com amostras de referência.

Resultados

Oitenta e quatro colônias com característica mucosa e pigmentação marrom foram submetidas a testes de identificação. Apenas duas demonstraram perfil bioquímico e fisiológico compatível com *C. neoformans*. A partir da reação de PCR multiplex, as amostras foram classificadas como sorotipo A e MAT α (Figura 1), permitindo a identificação da amostra como *C. neoformans* var. *neoformans*. As duas leveduras foram isoladas de ocos de *Caesalpinia peltophoroides* (CCp) e *Anadenanthera peregrina* (CAp).

Figura 1



MS, Barbosa FH, Bosco SM, Camargo ZP, Coelho KI, Fortes ST, Franco M, Montenegro MR, Sano A, Wanke B. Clues to the presence of pathogenic fungi in certain environments. *Medical Mycology*. 2000; 38:67-77.

Discussão

De acordo com os resultados obtidos no presente trabalho pode-se observar que a Madeira apodrecida de ocos de *Caesalpinia peltophoroides* e *Anadenanthera peregrina* pode servir como habitat natural habitat para *C. neoformans* var. *neoformans*. Restrepo et al. (2000) também isolaram *C. neoformans* var. *neoformans* de *Caesalpinia peltophoroides*, mas este foi o primeiro isolamento de *C. neoformans* de *Anadenanthera peregrina*. Até o presente, *C. neoformans* foi isolado de 22 espécies de árvores, reforçando as evidências de que *C. neoformans* não está associado a uma espécie particular de árvore, mas sim a um nicho específico formado pela degradação natural da madeira (FORTES et al., 2001).

É possível que a presença da levedura em ocos de árvores em áreas urbanas possa favorecer a contaminação de indivíduos imunossuprimidos devido à dispersão da levedura pelo ar. Assim observa-se a importância da identificação de focos ambientais de *C. neoformans*, com o objetivo de minimizar a exposição de pacientes suscetíveis ao contato com a levedura.

Referências

1. Barreto de Oliveira MT, Boekhout T, Theelen B, Hagen F, Baroni FA, Lazera MS, Lengeler KB, Heitman J, Rivera IN, Paula CR. *Cryptococcus neoformans* shows a remarkable genotypic diversity in Brazil. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42:1356-1359.
2. Fortes ST, Lazera MS, Nishikawa MM, Macedo RC, Wanke B. First isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from a native jungle tree in the Brazilian Amazon rainforest. *Mycoses*. 2001; 5:137-140.
3. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC. *Micologia médica*, São Paulo, Sarvier, 1991..
4. Terceti MS, Carvalho VG, Dias ALT, Paula CR, Siqueira AM, Franco MC. Desenvolvimento de PCR multiplex para determinação de mating type e sorotipo de *Cryptococcus neoformans*. *In: Resumos do XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia*, Santos, 2005.
5. Restrepo A, Baumgardner DJ, Bagagli E, Cooper CR Jr, McGinnis MR, Lazera