ESCOLA SUPERIOR BATISTA DO AMAZONAS

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

KAMILA LIBÓRIO DOS SANTOS BRAGA

PESQUISA DE *Cryptococcus* spp. COM POTENCIAL ZOONÓTICO EM ÁRVORES NO ENTORNO DE TRÊS HOSPITAIS DA CIDADE DE MANAUS-AM

Manaus - AM

201

KAMILA LIBÓRIO DOS SANTOS BRAGA

PESQUISA DE *Cryptococcus* spp*.* COM POTENCIAL ZOONÓTICO EM ÁRVORES NO ENTORNO DE TRÊS HOSPITAIS DA CIDADE DE MANAUS-AM

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção de grau de Bacharel. Escola Superior Batista do Amazonas. Curso de Graduação em Medicina Veterinária.

Orientador (a) Professor (a) Daniel José Hoffmann

_____

Manaus – AM

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte

B813p Braga, Kamila Libório dos Santos.
Pesquisa de Cryoptococcus ssp. com potencial zoonótico em árvores no entorno de três hospitais da cidade de Manaus / Kamila Libório dos Santos Braga. _ Manaus, 2018.
40 p.: il., color; 31cm.

Orientador: Prof. Msc. Daniel José Hoffmann.
Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Escola Superior Batista do Amazonas.

1. Levedura. 2. Saúde pública. 3. Patogênia. I. Hoffmann, Daniel José. II. Escola Superior Batista do Amazonas III. Título

CDD – 636.089

Bibliotecária Responsável: Thaís Lima Trindade – CRB11/ 687

KAMILA LIBÓRIO DOS SANTOS BRAGA

PESQUISA DE *Cryptococcus* spp. **COM POTENCIAL ZOONÓTICO EM ÁRVORES NO ENTORNO DE TRÊS HOSPITAIS DA CIDADE DE MANAUS-AM**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária. Escola Superior Batista do Amazonas. Curso de Graduação em Medicina Veterinária.

Aprovado em: 22 / 11 / 2018.

Daniel José Hoffmann
Médico Veterinário
CRMV/AM 1061

Prof. Daniel José Hoffmann. Me. ESBAM

Jandiara Kelly de O. Araújo

Profª. Jandiara Kelly Oliveira Araújo. M.ª. ESBAM

Silvia Gallani

Silvia Umeda Gallani. M.ª.

.

Dedicatória

Dedico aos meus pais, Libório e Maria Lúcia, por todo amor e respeito, por sempre estarem do meu lado me incentivando, sei que tudo que sou, vem de vocês.

Ao meu noivo Paulo que sempre me apoiou, meu porto seguro, meu amor e meu parceiro, sempre estando ao meu lado nos bons e maus momentos, essa vitória é, também, sua, minha vida.

Ao meu querido irmão Mickel por seu amor e respeito, você sempre foi meu companheiro e com quem sempre pude compartilhar bons momentos.

A minha madrinha Sônia (*in memoriam*), quanta saudade. Sei que nesses dias de angústia eu teria seu colo, seu abraço, seu aconchego, mas acima de tudo sei que você estaria torcendo por mim.

Aos meus familiares, muito obrigado pelas orações e conselhos, pois sei que todos fazem parte do meu sucesso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre esteve comigo em todos os momentos. Dando-me energia, saúde, e confiança para seguir empenhada para a realização de um propósito de caráter profissional e pessoal, muito obrigada, Senhor.

Em especial ao meu orientado Daniel Hoffmann, pela paciência, sabedoria e incentivo em todo o processo de desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço também aos meus amigos Raimundo Souza, Lorena Pacheco, Yasmina Marie, Kamila Lima e Paulo Freire que estiveram ao meu lado desde a turma do 4° período até o fim desta graduação e espero que continuem por toda a vida.

Agradeço aos amigos Jean Calderaro, Luíza Mieko, Evely Moreira, Rafaela Cavalcante e Yasmin Luzeiro que tive a oportunidade de conhecer no estágio e que em pouco tempo de convívio, compartilhamos conhecimentos e aprendemos a importância do trabalho em equipe.

Por fim, agradeço a todos que estiveram comigo nesta caminhada, que de alguma forma influenciaram a conquista do que hoje posso celebrar.

Muito obrigada!

″ O segredo da sabedoria, do poder e do
conhecimento é a humildade ″

(Ernest Hemingway).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo infeccioso de *Cryptococcus* (ambiente e hospedeiro) 12

LISTA DE ABREVIATURAS

SNC	Sistema Nervoso Central
HIV/AIDS	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
Var	Variação

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1 APRESENTAÇÃO 09

2 REFERENCIAL TERORICO 10

2.1 FUNGOS 10

2.2 CRIPTOCOCOSE 11

2.2.1Histórico 12

2.2.2Etiologia 13

2.2.3Epidemiologia 14

2.2.4Patogênia 16

2.2.5Diagnóstico Laboratorial 17

2.2.6 Meio de Cultura para Diagnóstico 17

REFERENCIAL TEÓRICO 18

CAPÍTULO II

PESQUISA DE *Cryptococcus* spp. COM POTENCIAL ZOONÓTICO EM ÁRVORES NO ENTORNO DE TRÊS HOSPITAIS DA CIDADE DE MANAUS-AM

RESUMO 21

ABSTRACT 22

2.4 INTRODUÇÃO 23

2.5 MATERIAL E MÉTODOS 24

2.6 RESULTADOS 26

2.7 DISCUSSÃO 27

2.8 CONCLUSÃO 28

REFERENCIAL TEÓRICO 29

ANEXOS I 31

ANEXOS II 38

CAPÍTULO I

1 APRESENTAÇÃO

Este trabalho Monográfico de Conclusão de Curso, objetiva defender a disciplina de TMCC do 10°período de Medicina Veterinária da Escola Superior do Amazonas – ESBAM.

O presente trabalho está dividido em dois capítulos, sendo o primeiro um referencial teórico sobre Pesquisa *de* Cryptococcus spp. com potencial zoonótico em árvores no entorno de três hospitais da cidade de Manaus-Amazonas e, o segundo capítulo contempla o artigo sobre a pesquisa realizada.

O primeiro capítulo apresenta uma revisão abrangente sobre a temática adotada, com apresentação de estudos referenciados atuais, visando elucidar todas as informações necessária sobre o assunto proposto para este estudo científico seguindo as orientações de apresentação de trabalhos acadêmicos desta Faculdade.

O segundo capítulo, segue as normas de orientação de elaboração do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia e tem a pretensão de apresentar um artigo nos moldes dessa revista abordando o tema Pesquisa de *Cryptococcus* spp. com potencial zoonótico em árvores no entorno de três hospitais da cidade de Manaus-AM.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FUNGOS

No meio ambiente existem diversos tipos de fungos (MEIRELES; NASCENTE, 2009). Estes são considerados micro-organismos de uma única célula ou pluricelular, incapazes de produzir seu próprio alimento, pertencentes ao Reino Fungi (MEIRELES; NASCENTE, 2009).

As espécies fúngicas podem ser saprofíticas, mutualistas ou parasitas (CARTER, 2005). Os fungos saprofíticos estão amplamente difundidos no ambiente, envolvidos na decomposição de vegetais e demais matérias orgânicas (CARTER, 1988). As espécies fúngicas mutualistas desenvolvem uma relação ecológica, que ocorre entre espécies diferentes e que beneficia todos os envolvidos na interação. (MEIRELES; NASCENTE, 2009). Os dermatóficos parasitas são patógenos, acarretando infecção cutânea denominada tinea em animais (CARTER, 2005).

Os fungos patogênicos para animais e humanos são assexuados e apresentam três métodos de reprodução assexuada são: brotameto das células de levedura (*Candida, Cryptococcus),* fragmentos das hifas (*Coccidioides immitis, Geotrichum candidum)*, esporulação seguida por germinação dos esporos (*Aspergillus* e *Penicillium*) (CARTER, 1988).

Os fungos zoonóticos são classificados como fungos francamente patogênicos que são aqueles fungos que causam tinea e as micoses mais comuns tais como blastomicose e histoplasmose e os fungos oportunistas que são aqueles que estão amplamente difundidos na natureza constituídos por alguns gêneros, por exemplo, *Penicillium, Aspergillus, mucor, Absidia e Rhizopus* que acometem animais e humanos com imunossupressão (CARTER, 1988).

Os fungos classificados como dermatófitos são filamentosos e septados, que invadem superfícies queratinizadas, como pele, pelos e unhas. São classificadas em três gêneros Microsporum, Trichophyton e Epidermophyton (BURTON, 2012).

Em bovinos, o Trichophyton é o principal agente causador das dermatofitoses. O Trichophyton verrucosum é um dermatófito de origem zoofílica adaptado em bovinos e fatores como aglomerações, umidade, calor, estresse e imunodeficiência do animal, predispõem para a passagem da forma sapróbia para a patogênica, desenvolvendo lesões de dermatofitose as quais são caracterizadas por alopecia, presença de crostas e prurido (FRANC, 1992).

As micoses subcutâneas acometem a derme e o tecido subcutâneo, sendo frequentemente associado a penetração de um corpo estranho. Os agentes causadores deste tipo de micose são fungos dimórficos (BURTON, 2012). No ambiente estes fungos tem o comportamento de filamentosos e no tecido animal se comportam como leveduriforme (FLORIANO,2014). No solo apresentam comportamento saprofítico e nos tecidos animais e no homem causam infecções oportunistas (FLORIANO, 2014).

Sporothrix schenckii está amplamente distribuído no ambiente, sendo mais frequentes em regiões tropicais e subtropicais (LACAZ et al., 1991). É causadora da micose subcutânea piogranulomatosa tendo como agente etiológico o fungo dimórfico Sporothrix schenckii, que acomete o homem e uma grande variedade de animais (KWON-CHUNG & BENNETT, 1992). As infecções são eventuais e acontecem em equinos, gatos e cães (KWON-CHUNG & BENNETT, 1992).

Outro gênero fúngico de importância veterinária é o *Aspergillus* spp. que apresenta como espécies causadoras de aspergilose o *A. fumigatus, A. terreus e A. deflectus*, embora muitas outras espécies já tenham sido descritas causando doença no homem e nos animais (LACAZ, 2002; CARTER, 2004). Aspergillus terreus é comumente associado a doenças sistêmicas e A. fumigatus a infecções localizadas (HARKIN, 2003).

Os fungos do gênero Aspergillus são de distribuição mundial, com algumas espécies ocorrendo em alta porcentagem em países de clima quente e subtropical (LACAZ, 2002). É um fungo bastante disseminado na natureza (LACAZ, 2002).

Sua importância para medicina humana se deve principalmente ao surgimento da AIDS e para Medicina Veterinária está bastante relacionada a pacientes imunossuprimidos (TELL, 2005). O fungo causador de aspergilose age de modo semelhante ao fungo do gênero *Cryptococcus* spp. (COLOMBO, 2013).

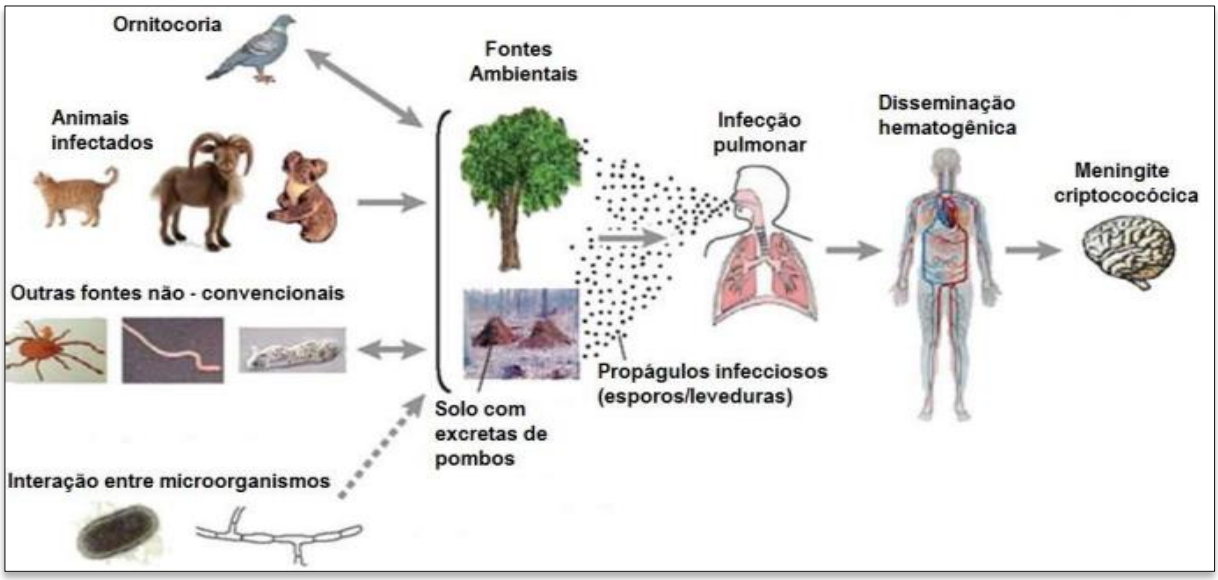
2.2 CRIPTOCOCOSE

A Criptococose é uma zoonose oportunista, causada por um fungo leveduriforme capsulado, podendo ser encontrado na sua forma saprófita em frutos e vegetais em estado de decomposição e no solo (OLIVEIRA et al., 2008).

As fezes das aves são tidas como substratos que propiciam a infecção, principalmente as fezes de pombos e raramente de morcegos (OLIVEIRA et al., 2008).

É uma doença infecciosa fúngica sistêmica de prognóstico grave (MALIK et al., 1997), de distribuição cosmopolita (REOLON et al., 2004) que acomete o homem, diversos animais, principalmente o gato doméstico e o cão (LARSSON et al., 2003; MALIK et al., 1997) . Na (figura 1), observa-se que a criptococcose é uma doença de transmissão inalatória, ou seja, ocorre a inalação dos esporos fúngicos e após a inalação ocorre a disseminação da infecção. Enfatiza-se então, que a criptococcose tem como principal forma de instalação a via respiratória (REOLON et al., 2004).

Figura 1. Ciclo infeccioso de *Cryptococcus* spp. (ambiente e hospedeiro)



Fonte: BARROS (2014)

2.2.1 HISTÓRICO

Em 1894, a Criptococose foi relatada por Busse como micose sistêmica que acomete o homem (PEREIRA; 2006).

O isolamento do agente de linfonodo de bovino foi realizado em 1901 por Sanfelice, nomeando o mesmo de *Toluropsis neoformans* (PEREIRA, 2006). Posteriormente, este mesmo autor demonstrou através de experimentos a patogenicidade deste agente para cães (PEREIRA; 2006).

O isolamento realizado por Busse foi nomeado de *Cryptococcus hominis e* em 1934, foi comprovado que os dois eram um único agente etiológico tendo recebido

tempo depois o nome de *Cryptococcus neoformans* no ano de 1950 (PEREIRA; 2006).

A etimologia da palavra *Cryptococcus* tem origem grega "Kryptos" que significa escondido, misterioso, secreto. Esta nomenclatura foi criada por Kutzing em 1833 (HEITMAN et al., 2011).

Até os anos 50 a doença era relatada esporadicamente em animais e em 1952 houve o primeiro relato de criptococose em gatos (PEREIRA; 2006).

No ambiente, o isolamento foi realizado em 1955 após serem encontrados no solo e nas excretas de aves, principalmente nas fezes de pombos (KWON-CHUNG, 1992).

Antes da epidemia da Síndrome de Imuno Deficiência Adquirida à enfermidade de criptococose era considerada incomum, porém, com a distribuição mundial da AIDS nos anos 80, aumentaram significativamente o número de casos da doença, sendo atualmente a infecção fúngica de maior incidência no mundo todo (GONÇALVES; ROZEMBAU 1994; FRANZOT et al., 1997 ; PAPPALARDO, 2003).

Muitos estudos foram realizados com base ao primeiro isolamento de *Cryptococcus neoformans* e ainda existem muitos aspectos clínicos, epidemiológicos e ecológicos desconhecidos, pois esse microrganismo cada vez mais aumenta seu ciclo reservatório e de reprodução (NISHIKAWA et al., 2003).

2.2.2 ETIOLOGIA

O agente causador da Criptococose é o *Cryptococcus neoformans* (PEREIRA; COUTINHO, 2003), sendo esta causada por variedades neoformans, variedade grubii e a variedade gatti. Cada uma dessas variedades apresentam diferentes sorotipos (SILVA; NEUFEULD, 2006). Entre os fungos patogênicos, este é o único que produz uma cápsula de mucopolissacarídeo nos tecidos e em cultura (SILVA; NEUFEULD, 2006).

O *C. neoformans* var. *grubii* e *C. neoformans* var *neoformans* apresentam os sorotipos A, D e A/D, o C. neoformans var. gatti apresenta os sorotipos B e C. Em sua maioria, dos isolados clínicos, o sorotipo A é o que apresenta maior predominância (TRABUSI; ALTHERTUM, 2015).

O C. neoformans tem fase sexuada em Basidiomycota e Filobasidiella neoformans é seu nome teleomórfico (SILVA; NEUFEULD, 2006). A partir das variedades neoformans e gatti são também descritas, respectivamente, as

variedades neoformans e bacillispora para F. neoformans (SILVA; NEUFEULD, 2006).

O fungo *Cryptococcus* spp. tem como característica uma cápsula que representa uma estrutura extracelular constituída por dois polissacarídeos complexos, a glucoronoxilomanana (GXM) que configura 92% da massa polissacarídea; e a galactoxilomanana (GalXM) além de uma proporção menor de mananoproteinas (MP) proteínas associada a glicanas ricas em resíduos de manose (Zaragoza et al, 2009, De Jesus et al, 2010).

A diferenciação das espécies e variedades está nos aspectos biológicos, bioquímicos, ecológicos, genéticos e antigênicos (QUEIROZ et al., 2008) e a diferença das estruturas das glucoronoxilomananas de sua parede celular permitiu a identificação dos cinco sorotipos atualmente conhecidos (STEENBERGEN; CASADEVALL, 2003).

2.2.3 EPIDEMIOLOGIA

A infecção criptocócica não tem uma área endêmica definida, sua distribuição é mundial (FRANZOT et at., 1999).

No Brasil estima-se que a enfermidade esteja associada a AIDS em torno de 8% a 12% em centros de referencia na região sudeste do país, ficando apenas atrás da Candidíase (BRASIL, 2012).

Leveduras de *C. neoformans* geralmente tem sido associadas a solo contendo fezes de pombos e outras aves (TRABUSI; ALTHERTUM, 2015). No entanto, por apresentarem temperatura interna por volta de 42°C, as aves dificilmente se infectam com *Cryptococcus*, devido à inibição da multiplicação do fungo (KWON et al., 2006). Enquanto, que *C. gattii* está associado principalmente a frutos, cascos e folhas de eucalipto (*E.tereticornis* e *E. camldulensis)* (TRABUSI; ALTHERTUM, 2015).

Cryptococcus gattii tem maior incidência em áreas tropicais e subtropicais da Austrália, África, Ásia, California (EUA) e América do Sul, mas, pode ocorrer em zonas de climas temperados. No México, Nova Guiné, Vancouver (Canadá) esta variedade tem sido isolada ao carvalho. *C. neoformans* é de distribuição cosmopolita (TRABUSI; ALTHERTUM, 2015).

As primeiras pesquisas realizadas no Brasil voltadas para o isolamento ambiental do *Cryptococcus* spp. ocorreram no Rio de Janeiro em área urbana, na

qual as amostras foram coletadas de árvores e ocos em decomposição (LAZÉRA et al., 1993).

Cryptococcus gattii foi isolado a partir do solo, poeira, e excrementos de aves e em madeira em decomposição (Cogliati, 2013). Na cidade de Belém capital do estado do Pará, foram registradas as primeiras ocorrências de Criptococose. Confirmando dezenove casos, dos quais nove destes, eram causados pelo *Cryptococcus gatti* (França,2013).

Teoricamente o *C. neoformans, C gattii* teria avançado por diversas partes do mundo a partir de sementes do Eucaliptus camaldulensis provenientes da Austrália, que continham micélios dicarióticos (MELO et al., 1993). O isolamento do *C. neoformans, C.gatti* na Austrália , foi realizado a partir das sementes, folhas , cascas e flores de eucalipto (*Eucaliptus camaldulensis*). Os basidiósporos encontrados nas flores dessas árvores são os principais propágulos para infecção (MELO et al., 1993).

No Estado do Espírito Santo, foi realizado o isolamento em árvores bastante antigas, principalmente nas regiões da Floresta Atlântica, demonstrando assim, que o fungo não é específico do Eucalipto (BALTAZAR e RIBEIRO, 2008).

A região brasileira onde o *C.gatti* é considerado endêmico é o Nordeste, na qual, vem sendo isolado em troncos de árvores e ocos das mais variadas espécies, como a Mangueira (*Manguira indica),* Eucalipto (*Eucalipto camandulensis)* e Cássia gigante (*Cassia grandis).*

A forma encontrada no ambiente é a capsulada, com diâmetro pequeno, (<1µm), favorecendo a penetração nos alvéolos pulmonares, pois o fungo pode permanecer no ambiente livre de umidade, completamente seco por longo período de tempo, de maneira que diversos substratos contaminados podem atuar como fontes de infecção por extensa duração de tempo (TRABUSI; ALTHERTUM, 2015).

A relevância clínica dos cinco sorotipos de *C. neoformans* (A, B, C, D e AD) e dois sorogrupos (A/D e B/C) varia segundo as regiões e o tipo de paciente (TRABUSI; ALTHERTUM, 2015). Os sorogrupos podem ser separados de acordo com a composição química do material capsular. O sorogrupo A/D é o mais comum, podendo ser isolado em altas concentrações de fezes de pombo, correspondendo (30%) e caracteriza o *C.neoformans* var. *neoformans* (TRABUSI; ALTHERTUM, 2015).

O sorogrupo A/D caracteriza as variedades *grubii* e *neoformans*, sendo o sorotipo A o mais frequente, em virtude do crescimento da Criptococose mundial e o sorogrupo B/C é o menos comum, apresentando maior incidência nas regiões tropicais, subtropicais e raramente em zonas temperadas (TRABUSI; ALTHERTUM, 2015).

2.2.4 PATOGÊNIA

A Criptococose é uma infecção fúngica crônica, aguda ou subaguda, meningoencefálica, pulmonar ou sistêmica, que tem como agente etiológico o *Cryptococcus neoformans* (SILVA; NEUFEULD, 2006). A doença se manifesta com quadro clínico bastante variado (CICHON et al., 2011; TAKAHARA et al.; 2011). Em geral, o organismo humano contrai as partículas fúngicas através da via aerógena, alojando-se primeiramente nos pulmões, multiplicando-se frequentemente de forma assintomática (CICHON et al., 2011; TAKAHARA et al.; 2011). Contudo, podem surgir complicações, devido a outros processos patológicos em pacientes imunocomprometidos, tornando-se sistêmica e fatal em pouco tempo, principalmente por seu tropismo pelo sistema nervoso central (SILVA; NEUFEULD, 2006).

Dados divulgados pelo Ministéro da Saúde no Brasil revelam que o fungo *Cryptococcus neoformans* por ter caráter oportunista tem sido muito observado em pacientes portadores de HIV/AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) ocupando a terceira causa oportunista de doença do Sistema Nervoso Central (M. SAÚDE; 2006), pois, o fungo após desenvolver-se nos pulmões em formas de nódulos, provocando sintomas como tosse seca, dor no peito e dispnéia disseminam-se pelo sangue através da corrente sanguínea ou linfática atingindo o sistema nervoso central (SNC) (GIORDANO et al; 1939). Assim, o fator de virulência da doença depende muito da resposta imune que o paciente apresenta e sua predominância varia de 2,9 a 13,3% representando importante causa de mortalidade na AIDS (CICHON et al., 2011; TAKAHARA et al.; 2011).

A criptococose muitas vezes é diagnosticada como meningencefalite de caráter insidioso, apresentando sintomas clínicos como, cefaléia, febre, vômitos e sincope. A inespecificidade das manifestações clínicas contribui para a dificuldade no diagnóstico, levando ao agravamento da doença (ANTINORI et.al ; 2001).

2.2.5 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O *C.neoformans* gera dentro dos tecidos células de fungos gemulantes, ovaladas, globosas ou com forma de limão, apresentando como característica uma cápsula de polissacarídeo envolvente (SILVA; NEUFEULD, 2006).

Ao realizar uma biópsia pulmonar, de escarro, liquor, urina, sedimento centrifugado e escarro a cápsula é imediatamente detectada quando executados em disposições microscópicas com tinta Nanquim que produzem uma coloração de fundo, ressaltando a capa hialina. A Observação deve ser realizada com baixa luminosidade, sendo necessário diferenciar os leucócitos, das células de leveduras, glóbulos de mielina, glóbulos de gordura e partículas de carbono aglutinadas e microrganismos como difteróides, espiroquetas e leveduras encapsuladas.

O escarro e o pús podem ser digeridos em hidróxido de potássio a 10% para eliminar a maioria das células de hospedeiro e outros artefatos que podem ser lidos equivocadamente como C.neoformans (SILVA; NEUFEULD, 2006). O material obtido do encéfalo a partir da necropsia pode ser compactado em uma lâmina de microscopia e examinados após ser contracorados com tinta nanquim ou a fresco (SILVA; NEUFEULD, 2006). Para a realização de exame direto de urina, realiza-se a centrifugação de uma amostra fresca e prepara-se a montagem microscópica com o sedimento.

O esfregaço é efetuado a partir de espécimes clínicos desidratados e fixados pelo calor e em seguida corados, porém, as células de C.neoformans podem não ser facilmente identificadas (SILVA; NEUFEULD, 2006).

2.2.6 MEIO DE CULTURA PARA DIAGNÓSTICO

Os sedimentos de espécimes clínicos centrifugados de urina, liquor ou escarro, pode ser cultivado em Ágar Sabouraud Dextrose e incubado em 30°C ou 37°C, sendo obtido o crescimento de colônias de coloração esbranquiçada, textura mucoide dentro de 2 a 5 dias (SILVA; NEUFEULD, 2006).

O Ágar semente de Níger em conjunto com o SDA pode ser empregado para o isolamente do fungo de espécimes de líquor. Tanto o *C.neoformans* var. *neoformans* como o *C.neoformans* var .*gatti* produzem fenoloxidase que oxida a

melalina contidos no Ágar Níger produzindo uma coloração marrom – escuro indicando o fungo facilmente nesse meio (SILVA; NEUFEULD, 2006).

2.3 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANTINORI, S. et al. *Cryptococcus neoformans* infection in a cohort of Italian AIDS patients: natural history, early prognostic parameters, and autopsy findings. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Berlin, v. 20, n. 10, p. 711-717, 2001.

BALTAZAR, L.M. Fatores de Virulência e Suscetibilidade a drogas antifúngicas de cepas clínica e ambientais de *Cryptococus* spp. 131f. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Federal do Espirito Santo, Vitória-ES, 2009.

BARBOSA, AT.F. et al. Criptococose pulmonar isolada em paciente imunocompetentes J. bras. pneumol., São Paulo, v.32, n.5, 2006.

BARROS, A.L.N. Analise Funcional do Gene VELB de *Cryptococcus neoformans*. 114f. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologias em Saúde), Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância Epidemiológica da Criptococose, Brasília, DF: MS, 2012.

ENGELKIRK, Paul G.; ENGELKIRK, Janet Duben. Burton, microbiologia para as ciências da saúde. Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2012.

CARTER, Betty Ed; MCGOLDRICK, Monica Ed. The changing family life cycle: A framework for family therapy. Gardner Press, 1988.

CASADEVALL, A. Criptococose. In: HASPER, D.L e FAUCI, A.S. (Eds). Doenças Infecciosas de Harrison. 2 Ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. Cap. 109, p. 893.

CASADEVALL, A.; PERFECT, J.R. *Cryptococcus neoformans*. ASM Press, Washington DC, 1998. 541p.

CICHON, M. et al. Isolamento de *Cryptococcus neoformans* de amostras ambientais de Curitiba e região metropolitana (Paraná, Brasil) e testes de suscetibilidade frente a drogas antifúngicas. Rev. bras. anal. clin, Rio de Janeiro, p. 176-179, 2011.

COLOMBO, A.L. *et al*. *Candida glabrata*: An emerging pathogen in Brazilian tertiary care hospitals. Medical Mycology. v. 51, n. 1, p. 38-44. 2013.

CORRÊA, G..L.B. Criptococose em gatos. Cienc. Rural, Santa Maria, v..24, n.2, p.431-434, 1994

DANTAS, K.C. Ao exame de biópsia utilizando os seguintes materiais biológicos, escarro, liquor, urina, o sedimento centrifugado. 173F. 2010. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2010

DE JESUS, M. et al. Glucuronoxylomannan, galactoxylomannan, and mannoprotein occupy spatially separate and discrete regions in the capsule of *Cryptococcus neoformans*. Virulence, Providence, v. 1, n. 6, p. 500-508, 2010.

FLORIANO, Marcos César. Doença de Jorge Lobo entre os índios Caiabi: epidemiologia. Análise histopatológica e imuno-histoquímica nas diferentes apresentações clínicas. 2014.

FRANÇA, J.S. Características clínicas, epidemiológicas e laboratoriais da criptococose no Distrito Federal no período de 2006 a 2013. 112f. 2015. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2015.

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, New York, v. 37, n. 3, p. 838-840, 1999.

HEITMAN, J. et al. *Cryptococcus*: from human pathogen to model yeast. American society for Microbiology Press, Washington, 2011. p. 646.

KNOKE, M.; SCHWESINGER, G. One hundred years ago: the history of cryptococcosis in Greifswald. Medical mycology in the nineteenth century. Mycoses, Londres, v.37, p. 229-233, 1994.

KWON-CHUNG, K.J.; POLACHECK, I.; BENNETT, J.E. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. neoformans (serotype A and D) and Cryptococcus neoformans var. gattii (serotype B and C). J. Clin. Microbiol., New York, v.15, p.535-537, 1982.

MALIK, R. et al. Asymptomatic carriage of *Cryptococcus neoformans* in the nasal cavity of dogs and cats. Journal of Medical and Veterinary Mycology, Washington, v. 35, n. 1, p. 27-31, 1997.

MEIRELES, Mário Carlos Araújo; NASCENTE, Patrícia da Silva. Micologia Veterinária. Ed. Universitária UFPEL, Pelotas, p. 456, 2009.

MELO N.T et al. Quimiotipagem do *Cryptococcus neoformans*. Revisão de Literatura. Novos dados epidemiológicos sobre a criptococose. Nossa experiência com o emprego do meio C.G.B. no estudo daquela levedura. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 35(5): 469-478, 1993.

NISHIKAWA, M.M. et al. Serotyping of 467 *Cryptococcus neoformans* isolates from clinical and environmental sources in Brazil: analysis of host and regional patterns. Journal of clinical microbiology, New York, v. 41, n. 1, p. 73-77, 2003.

OLIVEIRA, F. et al. Criptococose. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, Garça, v.1, n.11, 2008.

OLIVEIRA PENA, G. et al. Doenças infecciosas e parasitárias: aspectos clínicos, de vigilância epidemiológica e de controle - guia de bolso. 1.Ed. Brasília: Ministério da Saúde, 1998. P. 45.

PAPPALARDO, M.C.S.M.; MELHEM, M.S.C. Cryptococcosis: a review of the Brazilian experience for the disease. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, v. 45, n. 6, p. 299-305, 2003.

PEREIRA, A. P. C.; COUTINHO, S. D. A. Criptococose em cães e gatos–revisão. Revista Clínica Veterinária, São Paulo, p. 24-32, 2003.

DE QUEIROZ, J.P.A.F et al. Registro de Pegadas de Quatis (Nasua Nasua) para Monitoramento e Educação Ambiental Utilizando Diferentes Substratos. Acta Veterinaria Brasilica, Mossoró. v. 2, n. 1, p. 11-15, 2008.

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, Rio de Janeiro, v. 40, n. 5, p. 293-298, 2004.

ROZENBAUM, R.; GONÇALVES, A.J.R. Clinical epidemiological study of 171 cases of cryptococcosis. Clinical Infectious Diseases, Oxford, v. 18, n. 3, p. 369-380, 1994.

SIDRIM, J.J.C; ROCHA, M.F.G. Micologia médica à luz de autores contemporâneos. 1. Ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004.

SILVA, C.H.P.M.; NEUFELD,P.M. Bacteriologia e micologia para o laboratório clínico. Revinter, Rio de Janeiro, v. 246, p. 258-259, 2006.

STEENBERGEN, J.N.; CASADEVALL, A. The origin and maintenance of virulence for the human pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. Microbes and infection, Merced, v. 5, n. 7, p. 667-675, 2003.

TELL, Lisa A. Aspergillosis in mammals and birds: impact on veterinary medicine. Medical Mycology, v. 43, n. Supplement_1, p. S71-S73, 2005.

TAKAHARA, D. T. Isolamento e identificação de *Cryptococcus neoformans* a partir de excretas de pombos provenientes de locais públicos e residenciais de Cuiabá e Várzea Grande–MT. 122f. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência da Saúde), Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá-MT, 2011.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. Microbiologia. 5. ed. Rio de Janeiro: Atheneu. 2008. 780p.

YAMAMURA et al. Estudo dos nichos ecológicos de leveduras patogênicas das espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* na cidade de Londrina, PR. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 34, n. 2, p. 793-804, 2013.

ZARAGOZA, Oscar et al. Fungal cell gigantism during mammalian infection. PLoS pathogens, São Francisco, v. 6, n. 6, 2010.

CAPÍTULO II

Pesquisa de *Cryptococcus* spp. com Potencial Zoonótico em Árvores no entorno de três Hospitais da cidade de Manaus-AM

Research of Cryptococcus spp*. with Zoonotic Potential in Trees in the surroundings of three Hospitals of the city of Manaus-AM*

K.L.S. *Braga*[1], D.J. *Hoffmann*[2]

Resumo O *Cryptococcus* spp. é um fungo zoonótico e oportunista de grande importância para a saúde humana e animal. Esta pesquisa microbiológica em espécies de árvores situadas em ambientes externos de 3 hospitais públicos da cidade de Manaus objetivou determinar a presença dessa levedura. Coletou-se um total de 15 amostras de mangueiras (*Mangifera indica L.),* Palmeira-real-australiana *(Archontophoenix alexandrae)* e Embaúba (*Cecropia pachystachya)*. As fibras vegetais de 5 árvores da mesma espécie foram acondicionadas em um (1) coletor para cada hospital (H1-H3). O cultivo fúngico foi realizado em meios de cultura de ágar semente de Níger e Sabouraud dextrose com cloranfenicol a 2%, sendo incubado a 30ºC por um período não menor que cinco dias. Em nenhuma das amostras analisadas foi verificada a presença da *Cryptococcus* spp., mas a semeadura evidenciou a presença de outra levedura, sugestiva de *Aspergillus* spp. que também é um fungo oportunista, de potencial patogênico , bastante disseminado na natureza. Acomete principalmente pacientes imunossuprimidos sendo de grande importância para saúde pública por ser causador de zoonoses. Desta forma se faz necessário dar continuidade nos estudos desses tipos de microrganismos de importância para a saúde humana e animal.

Palavras-Chave: Levedura, Patogênica, Saúde Pública.

Research of *Cryptococcus* spp. with Zoonotic Potential found in Trees in

[1]Graduanda do Curso de Medicina Veterinária, Escola Superior Batista do Amazonas, Manaus, AM, Brasil. liborio.kamila@gmail.com.
[2]Médico Veterinário, Escola Superior Batista do Amazonas, Manaus, AM, Brasil.

the surroundings of three Hospitals of the city of Manaus-AM

Abstract

Cryptococcus spp. is a zoonotic and opportunistic fungus of great importance for human and animal health. This microbiological research on tree species located outside of 3 public hospitals in the city of Manaus aimed to determine the presence of this yeast. A total of 15 samples of mangoes (Mangifera indica L.), Royal Palm-Australian (Archontophoenix alexandrae) and Embaúba (Cecropia pachystachya) were collected. The plant fibers of 5 trees of the same species were conditioned in one (1) collector for each hospital (H1-H3). Fungal culture was carried out in culture media of Niger and Sabouraud dextrose seed agar with 2% chloramphenicol and incubated at 30ºC for a period of not less than five days. In none of the analyzed samples were the presence of Cryptococcus spp. Verified, but sowing evidenced the presence of another yeast, suggestive of Aspergillus spp. which is also an opportunistic fungus, of pathogenic potential, widely disseminated in nature. It mainly affects immunosuppressed patients and is of great importance for public health because it causes zoonoses. In this way it is necessary to continue the studies of these types of microorganisms of importance for human and animal health.

Keywords:. Yeast, Pathogenic, Public Health

2.4 INTRODUÇÃO

O estado do Amazonas é um dos maiores representantes do bioma amazônico, com vegetação bastante diversificada e densa e, um clima quente e úmido durante o ano todo (BRAGA, 2015). Todas essas características podem favorecer a ocorrência fúngica na madeira principalmente quando se encontra em estado de decomposição, servindo, portanto, de reservatório para diversas espécies microbiológicas (YAMAMURA et al., 2013).

O *Cryptococcus gattii* tem a árvore do eucalipto como reservatório natural, segundo Baltazar (2009), nas suas flores são encontradas a maior quantidade de basidiósporos e, que nos últimos anos essa semeadura foi realizada através da exportação desse tipo de árvore, da Austrália para diversos países, incluindo o Brasil.

O *C. gattii* se adaptou a nichos ecológicos característicos, podendo ser encontrado em árvores de regiões tropicais e subtropicais (FILIÚ et al.,2002; FERNANDES et al.,2000). De acordo com, Montana (2016), para povoar a madeira é necessário que o ambiente herbáceo apresente condições favoráveis de umidade, temperatura, aeração, pH e inexistência de substâncias tóxicas (MONTANA, 2016).

As primeiras pesquisas realizadas no Brasil voltadas para o isolamento ambiental do *Cryptococcus spp.* ocorreram no Rio de Janeiro em área urbana, na qual as amostras foram coletadas de árvores de diversas espécies e, ocos em decomposição (LAZÉRA et al., 1993).

Em outra pesquisa microbiológica desenvolvido no Estado do Espírito Santo, ocorreu o isolamento deste microrganismo em uma diversidade de árvores bastante antigas, principalmente nas regiões da Floresta Atlântica, demonstrando versatilidade desse fungo no ambiente urbano (BALTAZAR, 2009).

Na cidade de Belém, capital do estado do Pará, foram registradas as primeiras ocorrências de Criptococose em humanos, com dezenove casos confirmados, dos quais nove destes, eram causados pelo *Cryptococc* 24 *gatti* (FRANÇA,2015).

O *Cryptococcus* spp. possui caráter oportunista e pode ser observado em pacientes imunossuprimidos, como os portadores de HIV/AIDS e, em pacientes com doença do Sistema Nervoso Central. Entretanto, a criptococose não é uma doença

de notificação compulsória, mesmo com o crescimento dos índices desta enfermidade nos últimos anos (ABEGG et al, 2006; BRASIL, 2012).

Assim, o desenvolvimento deste trabalho teve o objetivo de verificar a existência de fungos do gênero *Cryptococcus* spp. em amostras de árvores coletadas no entorno de três Hospitais da Cidade de Manaus-AM, que são espaços público de alta rotatividade e que sempre concentram um enorme volume de pessoas em tratamento.

2.5 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da Escola Superior Batista do Amazonas, inscrito sob o n. 093/2018 (Anexo II).

A amplitude do estudo compreendeu o entorno de três hospitais públicos da cidade de Manaus-AM, localizados no perímetro urbano, sendo dois deles estabelecidos na zona norte e, o terceiro na zona centro-sul.

A pesquisa microbiológica foi desenvolvida no Laboratório Multidisciplinar da Escola Superior Batista do Amazonas – ESBAM que possui estrutura física para a realização deste estudo que foi realizado no mês de setembro/2018.

Foram coletadas um total 15 amostras de árvores próximas aos ambientes hospitalares, que foram escolhidos devido a variada arborização e, por estarem em ambiente de significativa circulação de animais, pessoas, principalmente pessoas imunossuprimidas.

Os fragmentos de tronco coletados são de três espécies de árvores: Mangueiras (*Mangifera indica L.),* Palmeira-real-australiana *(Archont* *enix alexandrae)* e Embaúba (*Cecropia pachystachya*) e, livres de excretas de aves.

As coletas foram realizadas com o uso de EPIs necessários como: máscara, óculos de proteção, luvas e jaleco e, com auxílio de uma espátula de ferro, conforme estipula o Manual Veterinário de Coleta de Amostras (BRASIL, 2010).

Foram coletadas fibras vegetais de 5 árvores da mesma espécie em um (1) coletor para cada hospital (H1-H3) conforme descrito na Tabela 1. Após a realização da coleta, os coletores foram transportados em caixa isotérmica em temperatura ambiente para processamento no laboratório. O processo foi realizado em três dias consecutivos.

Tabela 1. Tipo de árvores amostrais por hospital

Hospitais	Espécies vegetais utilizadas na amostragem
H1	Mangueiras (*Mangifera indica L.)*
H2	Palmeira-real-australiana *(Archontophoenix alexandrae)*
H3	Embaúba (*Cecropia pachystachya)*

As amostras foram processadas utilizando a mesma metodologia empregada no estudo de Araújo Júnior (2015), sendo as amostras maceradas, formando três pools de cinco para cada coletor do hospital, totalizando nas 15 amostras.

O cultivo fúngico foi realizado em meios de cultura de ágar semente de Níger e Sabouraud dextrose com cloranfenicol a 2%, sendo incubado a 30ºC por um período não menor que cinco dias.

A leitura era diária e os repiques foram realizados sempre que necessário, para consecução de isolados genuínos.

As colônias sugestivas para *Cryptococcus* spp. que apresentaram coloração marrom-escura em ágar Níger e crescimento mucoso com pigmentação variando de bege a acastanhada em ágar Sabouraud, foram coradas com tinta nanquim e azul de metileno para confirmar a presença da cápsula fúngica.

2.6 RESULTADOS

Os resultados revelaram que das 15 amostras coletadas de árvores do entorno dos três hospitais dentro do perímetro urbano de Manaus - AM, não obtiveram o crescimento de *Cryptococcus* spp*.* nos meios de cultura Ágar Sabouraud Dextrose e nem no meio de cultura Ágar Semente de Níger.

As árvores de onde foram coletados os fragmentos dos troncos foram as Mangueiras (*Mangifera indica L.),* Palmeira-real-australiana *(Archontophoenix alexandrae)* e Embaúba (*Cecropia pachystachya*), bastante comum no paisagismo urbanístico da cidade.

Das semeaduras realizadas nas placas de petri com ágar Sabouraud Dextrose com Clorafenicol e Ágar semente de Níger duas delas apresentaram crescimento sugestivos de fungos como: *Aspergillus* spp. com crescimento de colônias algodonosas , colônias veludosas e membranosas.

Tabela 2. Isolamento para identificação de *Cryptococcus* spp. em três espécies vegetais.

Hospitais	Espécies vegetais utilizadas na amostragem	Amostras Produzidas	Resultado
H1	Mangueiras (*Mangifera indica L.)*	5	Ausente*
H2	Palmeira-real-australiana *(Archontophoenix alexandrae)*	5	Ausente*
H3	Embaúba (*Cecropia pachystachya)*	5	Ausente*

*Não ocorreu crescimento do microg. Pesquisado

.

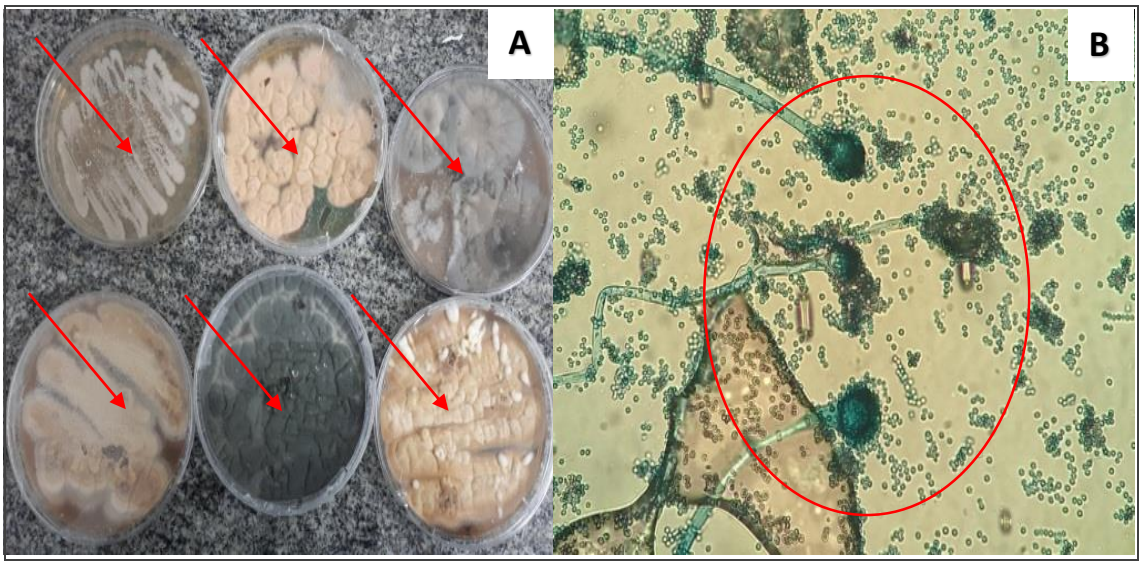


Figura 1. A - Crescimento microbiológico B-Colônia sugestiva de *Aspergillus spp.* determinada na pesquisa.

2.7 Discussão

No estudo de Baltazar e Ribeiro (2008), o primeiro isolamento de *C. Gattii* no Espírito Santo foi observado crescimento fúngico em amostras de árvores nativas da Mata Atlântica e localizadas em ambiente de reserva, enquanto que as amostras coletadas em ambiente urbano não permitiram a detecção desse microrganismo.

Araújo et al. (2015) corrobora a pesquisa dos autores supracitados destacando que os basidiósporos encontrados nas flores são os principais propágulos para infecção, mesmo que possam estar presentes em outras partes de uma árvore.

A temperatura é um fator imprescindível ao desenvolvimento dessa levedura, de acordo com Nascimento (2013) em amostras biológicas as leveduras submetidas a diferentes temperaturas, foi observado comportamento de crescimento distintos, onde as amostras submetidas a 30°C se desenvolveram, enquanto que as amostras submetidas a temperatura acima de 37°C não foi notado crescimento microbiológico. Comprovadamente, nos estudos de Yamamura et al. (2013), destaca-se que esse fungo apresenta baixa tolerância térmica, por essa razão as aves não se i 28 am, visto que apresentam temperatura corpórea alta (em torno de 42°C).

No entanto, nas semeaduras realizadas com Ágar Sabourand Dextrose com clorafenicol e Ágar semente de Níger ocorreu crescimento microbiológico sugestivo para o fungo *Aspergillus* spp., com colônias algodonosas, colônias veludosas e membranosas, em todas as amostras analisadas.

O Fungo *Aspergillus* spp. apresenta como espécies causadoras de aspergilose o *A. fumigatus, A. terreus e A. deflectus*, embora muitas outras espécies já tenham sido descritas causando doença no homem e nos animais (LACAZ, 2002; CARTER, 2004). Aspergillus terreus é comumente associado a doenças sistêmicas e A. fumigatus a infecções localizadas (HARKIN, 2003).

Os fungos do gênero *Aspergillus* spp. são de distribuição mundial, com algumas espécies ocorrendo em alta porcentagem em países de clima quente e subtropical (LACAZ, 2002). É um fungo bastante disseminado na natureza (LACAZ, 2002).

Sua importância para medicina humana se deve principalmente ao surgimento da AIDS e para Medicina Veterinária está bastante relacionada a pacientes imunossuprimidos (TELL, 2005). O fungo causador de aspergilose age de modo semelhante ao fungo do gênero *Cryptococcus* spp. (COLOMBO,2013).

A Ausência da levedura *Cryptococcus* spp. nas amostras de tronco de árvores de hospitais de Manaus esclarece que apesar do resultado nas amostras ter sido negativo não descarta a possibilidade da presença deste fungo. Pois, ambientes abertos e públicos favorecem o trânsito de várias espécies de animais e com isso maior deposição de excretas, esse aspecto influencia a presença de outros tipos de leveduras principalmente as mais tolerantes a radiação solar (KWON-CHUNG e BENNET, 1982).

2.8 CONCLUSÃO

Conclui-se que há uma necessidade de ampliar os estudos sobre esses tipos de microrganismos em outros períodos do ano e com maior amplitude amostral, no sentido de mensurar um panorama sobre essa levedura, uma vez que foram observados em todas as amostras avaliadas a presença de outras microbiotas concorrentes com potencial zoonótico e de grande importância para saúde pública, uma vez que acomete tanto as pessoas como os animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEGG, M.A. et al. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* isolated from the excreta of psittaciformes in a southern. Brazilian zoological garden, Curitiba, v.16, n.2, p. 83-91, 2006.

ARAUJO JR. E.C. et al. *Cryptococcus:* isolamento ambiental e caracterização bioquímica. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*.*, Botucatu, v.67, n.4, p.1003-1008, 2015.

BALTAZAR, L.M. Fatores de Virulência e Suscetibilidade a drogas antifúngicas de cepas clínica e ambientais de *Cryptococus* spp. 131f. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências), Universidade Federal do Espirito Santo, Vitória-ES, 2009.

BALTAZAR, L.M.; RIBEIRO, M.A. Primeiro isolamento ambiental de Cryptococcus gattii no Estado do Espírito Santo. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Uberaba, v.41, n.5, p.449-453, 2008.

BRAGA, P.H.M. O clima do Amazonas: Uma interpretação dos discursos de administradores provinciais (1850-1890). 127f. 2015. Dissertação (Mestrado em História). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância Epidemiológica da Criptococose, Brasília, DF: MS, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Manual veterinário de colheita e envio de amostras: manual técnico. Rio de Janeiro: OPAS/OMS, 2010.

COLOMBO, A.L. *et al*. *Candida glabrata*: An emerging pathogen in Brazilian tertiary care hospitals. Medical Mycology. v. 51, n. 1, p. 38-44. 2013.

EGRES, C.C. Isolamento ambiental *Cryptococcus* spp. em hospital de Porto Alegre-RS. 81f. 2010. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2010.

FERNANDES, O.F.L.; COSTA, T.R.; COSTA, M.R.; SOARES, A.J.; PEREIRA, A.J.S.C.; SILVA, M.R.R. *Cryptococcus neoformans* isolados de pacientes com AIDS. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Uberaba, v.33, n.1, p.75-78, 2000.

FILIU, W.F.O. et al. Habitats aviários como fontes de Cryptococcus neoformans na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. Uberaba, v.35, n.6, p.591-595, 2002.

FRANÇA, J.S. Características clínicas, epidemiológicas e laboratoriais da criptococose no Distrito Federal no período de 2006 a 2013. 112f. 2015. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2015.

FRANC, M.; CADIERGUES, M. C. Les teignes bovines. Revue de Médecine Vétérinaire, n. 143, p. 91-94, 1992.

KWON-CHUNG, K.J.; POLACHECK, I.; BENNETT, J.E. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. neoformans (serotype A and D) and Cryptococcus neoformans var. gattii (serotype B and C). J. Clin. Microbiol., New York, v.15, p.535-537, 1982.

NASCIMENTO, D.C. Ocorrência de leveduras pertencentes ao gênero *Cryptococus* em cloada e inglúvio de papagaios do gênero *Amazona aestiva*. 94f. 2013. Dissertação (Mestre em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2013.

YAMAMURA et al. Estudo dos nichos ecológicos de leveduras patogênicas das espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* na cidade de Londrina, PR. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 34, n. 2, p. 793-804, 2013.

COLOMBO, A.L. *et al*. *Candida glabrata*: An emerging pathogen in Brazilian tertiary care hospitals. Medical Mycology. v. 51, n. 1, p. 38-44. 2013.

ANEXO I – PERÍODICO ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA

ARQUIVO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences

ISSN 1678-4162 *versão online*

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Política Editorial
Reprodução de artigos publicados
Orientações Gerais
Comitê de Ética
Tipos de artigos aceitos para publicação
Preparação dos textos para publicação
Formatação do texto
Seções de um artigo
Taxas de submissão e de publicação
Recursos e diligências

Política Editorial

O periódico **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia** (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science), ISSN 0102-09 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNI 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre tem de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de orig animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Cor Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cu textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. aceitos para publicação tornam-se propriedade do **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ)** citado como **Arq. Bras. Me Vet. Zootec.** Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações ne contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclus ao **ABMVZ**.

Reprodução de artigos publicados

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que s corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.
A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endere eletrônico <http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>.
Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis endereço www.scielo.br/abmvz.

Orientações Gerais

Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicaç online do Scielo – ScholarOne, endereço http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo sendo necessário cadastramento no mesmo.
Leia "PASSO A PASSO – SISTEMA DE SUBMISSÃO DE ARTIGOS POR INTERMÉD DO SCHOLARONE"
Toda a comunicação entre os diversos autores do processo de avaliação e publicação (autores, revisores e editores) será feita apenas de forma eletrôr pelo Sistema, sendo que o autor responsável pelo artigo será informa automaticamente por e-mail sobre qualquer mudança de status do mesmo.

Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicaç online do Scielo – ScholarOne, endereço http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo sendo necessário cadastramento no mesmo.
Leia "PASSO A PASSO – SISTEMA DE SUBMISSÃO DE ARTIGOS POR INTERMÉD DO SCHOLARONE"
Toda a comunicação entre os diversos autores do processo de avaliação e publicação (autores, revisores e editores) será feita apenas de forma eletrôr pelo Sistema, sendo que o autor responsável pelo artigo será informa automaticamente por e-mail sobre qualquer mudança de status do mesmo.
Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridos no texto e quar solicitados pela equipe de editoração também devem ser enviados, em separa em arquivo com extensão JPG, em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipa inserido em "Figure or Image" (Step 6).
É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de c cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu no no texto submetido.
O **ABMVZ** comunicará a cada um dos inscritos, por meio de correspondên eletrônica, a participação no artigo. Caso um dos produtores do texto r concorde em participar como autor, o artigo será considerado como desistên de um dos autores e sua tramitação encerrada.

Comitê de Ética

É indispensável anexar cópia, em arquivo PDF, do Certificado de Aprovação Projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ét no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. documento deve ser anexado em "Ethics Conmitee" (Step 6). Esclarecemos c o número do Certificado de Aprovação do Projeto deve ser mencionado no cam Material e Métodos.

Tipos de artigos aceitos para publicação

Artigo científico
É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de c os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.
Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente "Title Page" – Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métod Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimen (quando houver) e Referências.
O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas, figuras Referências.
O número de Referências não deve exceder a 30.
Relato de caso
Contempla principalmente as áreas médicas em que o resultado é anterior interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.
Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente "Title Page" - Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) Referências.
O número de páginas não deve exceder a dez, incluindo tabelas e figuras.
O número de Referências não deve exceder a 12.
Comunicação

288

289

Artigo científico

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de c os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente "Title Page" – Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métod Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimen (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas, figuras Referências.

O número de Referências não deve exceder a 30.

Relato de caso

Contempla principalmente as áreas médicas em que o resultado é anterior interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente "Title Page" - Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) Referências.

O número de páginas não deve exceder a dez, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

Comunicação

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental digno publicação, embora insuficiente ou inconsistente para constituir um art científico.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Ti Page" - Step 6). Deve ser compacto, sem distinção das seções do te especificadas para "Artigo científico", embora seguindo àquela ordem. Quand Comunicação for redigida em português deve conter um "Abstract" e quar redigida em inglês deve conter um "Resumo".

O número de páginas não deve exceder a oito, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal.

Formatação do texto

O texto **NÃO** deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo, deve ser apresentado em arquivo Microsoft Word e anexado como "Main Document" (Step 6), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte Times New Roman, no tamanho 12 e no espaçamento de entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), **com linhas numeradas**.

Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

Seções de um artigo

Título: Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e r ultrapassar 50 palavras.

é oito). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

Figura. Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

Nota: Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

Discussão: Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer uma das partes).

Conclusões: As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

Agradecimentos: Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

Referências: As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ, conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88);

dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974);

mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979);

mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal. Não faz parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

2. Periódicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

Recursos e diligências

No caso de o autor encaminhar resposta às diligências solicitadas pelo ABMVZ documento de recurso o mesmo deverá ser anexado em arquivo Word, no it "Justification" (Step 6), e também enviado por e-mail, aos cuidados do Com Editorial, para abmvz.artigo@abmvz.org.br.
No caso de artigo não aceito, se o autor julgar pertinente encaminhar recurso mesmo deve ser feito pelo e-mail abmvz.artigo@abmvz.org.br.

[Home] [Sobre esta revista] [Corpo editorial] [Assinaturas]

Toda o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma Licença Creative Commons

© 2001-2007 Escola de Veterinária UFMG

Caixa Postal 567
30123-970 Belo Horizonte MG Brasil
Tel: +55 31 3409-2042
Tel: +55 31 3409-2041

eMail

abmvz.artigo@abmvz.org.br

ANEXO II – CERTIFICADO CEUA

ESBAM

CEUA

Escola Superior Batista do Amazonas

Certificamos que o projeto intitulado **"INCIDÊNCIA DE (*Cryptococcus spp*) COM PONTENCIAL ZOONÓTICO ENCONTRADOS EM TRONCOS OCO E ÁRVORES NO ENTORNO DE TRÊS HOSPITAIS DA CIDADE DE MANAUS."** Protocolo sob o nº 093/2018, sob-responsabilidade do (a) Profa. Ma. Vanessa Maria Machado Ale, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "comissão de Ética no uso de animais" da Escola Superior Batista do Amazonas e foi aprovado em reunião de 10/09/2018.

Manaus,26 de outubro de 2018

Vanessa Maria Machado Ale
Médico Veterinário
CRMV-AM

Vanessa Maria Machado Ale

Coordenadora – CEUA – ESBAM

Unidade I
Rua Leonor Teles nº 153 – Conjunto Abílio Nery – Adrianópolis
Manaus – AM CEP: [illegible]

CNPJ: 03.410.604/0001-02
[illegible]