

FACULDADE NOVA ESPERANÇA DE MOSSORÓ – FACENE/RN

JULIANY FERNANDES BARBOZA

**PREVALÊNCIA DE *Cryptococcus neoformans* EM AMOSTRAS DE FEZES DE POMBOS (*Columba livia*) PRESENTES NA PRAÇA RODOLFO FERNANDES NA CIDADE DE MOSSORÓ/RN**

MOSSORÓ

2018

JULIANY FERNANDES BARBOZA

**PREVALÊNCIA DE *Cryptococcus neoformans* EM AMOSTRAS DE FEZES DE POMBOS (*Columba livia*) PRESENTES NA PRAÇA RODOLFO FERNANDES NA CIDADE DE MOSSORÓ/RN**

Monografia apresentada à Faculdade Nova Esperança de Mossoró (FACENE) como obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Me. Francisco Vicente Andrade Neto

MOSSORÓ

2018

B238p

Barboza, Juliany Fernandes.

Prevalência de *Cryptococcus neoformans* em amostra de fezes de pombo (*Columba livia*) presentes na Praça Rodolfo Fernandes na cidade de Mossoró/RN/ Juliany Fernandes Barboza. – Mossoró, 2018.

27.:il.

Orientador: Prof. Me. Francisco Vicente Andrade Neto

Monografia (Graduação em Biomedicina) – Faculdade de Enfermagem Nova Esperança de Mossoró.

1. *Columba livia* - Pombo. 2. *Cryptococcus neoformans*. 3. Criptococose. I. Título. II. Andrade Neto, Francisco Vicente.

CDU 579

JULIANY FERNANDES BARBOZA

**PREVALÊNCIA DE *Cryptococcus neoformans* EM AMOSTRAS DE FEZES DE POMBOS (*Columba livia*) PRESENTES NA PRAÇA RODOLFO FERNANDES NA CIDADE DE MOSSORÓ/RN**

Monografia apresentada pela aluna JULIANY FERNANDES BARBOZA do curso de Bacharelado em Biomedicina, tendo obtido o conceito de \_\_\_\_\_ conforme a apreciação da Banca Examinadora constituída pelos professores:

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Me. Francisco Vicente Andrade Neto - FACENE

ORIENTADOR

---

Prof. Dr. André Menezes do Vale – FACENE

MEMBRO

---

Prof. Dr. Almino Afonso de Oliveira Paiva – FACENE

MEMBRO

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, que iluminou o meu caminho durante esta caminhada, a minha família, meu namorado e amigos que foram compreensíveis e contribuíram com palavras de motivação.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que foi minha maior força nos momentos de angústia e desespero. Sem ele, nada disso seria possível. Obrigada, senhor, por colocar esperança, amor e fé no meu coração.

Agradeço à minha mãe, Maria Bertilene que batalhou muito para me oferecer uma educação de qualidade.

Ao meu pai, Jurandir Barboza que sempre acreditou no meu potencial e nunca negou uma palavra de incentivo.

À minha irmã Julia Fernandes, que mesmo sem paciência sempre esteve na torcida por mim.

Agradeço ao meu namorado Alexandre Souza, por me acompanhar nessa jornada de noites mal dormidas, mas sempre estando ali comigo, aguentando meus estresses com o TCC.

Aos meus cachorros Lupi e Logan, que me acompanharam nas madrugadas.

Aos meus amigos da faculdade, Leticia Fernandes, Marina Alice, Antoniel Soares, Bruno Morais e Sinthia Ruanna, que sempre estavam ali me ajudando no que eu precisasse, tirando minhas dúvidas.

A Poliany Silva, por todo apoio e por ter ido coletar as amostras comigo.

As minhas três tias preferidas Berenice Fernandes, Bernadete Fernandes e Janice Barboza, que mesmo longe me apoiou e me ajudava sempre que podia.

Agradeço a Faculdade Nova Esperança, pela oportunidade de fazer o curso de Biomedicina, por me oferecer professores incríveis, um ambiente de estudo saudável e muitos estímulos para participar de atividades acadêmicas. Sou grata não só aos professores, mas também à direção, ao pessoal do administrativo, da limpeza e demais colaboradores da instituição.

Ao meu orientador, Francisco Vicente pela oportunidade e elaboração deste trabalho, pela paciência, correções, incentivo e por todo conhecimento compartilhado, sou muito grata.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

*“O insucesso é apenas uma oportunidade para  
recomeçar com mais inteligência”*

Henry Ford

## RESUMO

Os pombos (*Columba livia*) estão entre os animais que tem uma grande adaptação nos centros urbanos. É uma espécie que está quase sempre presente nas cidades cuja presença nas moradias humanas pode causar graves problemas à saúde, representando um potencial de risco para saúde pública, devido à possibilidade de transmissão de zoonoses. Essas aves bem adaptadas às circunstâncias urbanas proliferam de maneira fácil e se abrigam nas edificações. Suas excretas, além de produzirem sujidade, são um meio favorável para o desenvolvimento de microorganismos parasitas como fungos, destacando-se entre eles o agente da criptococose, o *Cryptococcus neoformans*. A criptococose, também conhecida como torulose ou blastomicose européia, é uma doença infecciosa fúngica potencialmente fatal, cosmopolita, que pode acometer animais domésticos, silvestres e o homem. Mossoró/RN é uma cidade onde os pombos têm facilidade de encontrar abrigos, principalmente em locais públicos, como na Praça Rodolfo Fernandes, onde há contato da população e de comidas atiradas ali, com a finalidade de alimentar os pombos. Essa pesquisa de caráter experimental exploratória quantitativa tem como objetivo identificar o fungo *Cryptococcus neoformans*, que é uma levedura encapsulada e agente etiológico da criptococose em humanos e animais e conscientizar a população a não jogar alimentos e ter cuidados com sua saúde para não adquirir a doença. Esse fungo é encontrado em fontes ambientais, incluindo fezes de pombos, sendo uma importante causa de mortalidade em indivíduos imunodeprimidos. Foram coletadas 54 amostras, as mesmas foram semeadas em placas com meio ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e incubadas em estufas com uma temperatura entre 25 e 30°C, sendo observadas por 05 dias e, posteriormente, as colônias desenvolvidas, analisadas no microscópio óptico utilizando o KOH e tinta da china (nankin), sendo possível identificar as células de leveduras capsuladas, característica do gênero *Cryptococcus*. Das 54 amostras, 36 foram positivas para o *Cryptococcus neoformans*, tendo um percentual de positividade de 66,7%, não obtendo um índice maior provavelmente, devido ao período seco que se encontra a cidade. A elevada temperatura e baixa umidade são fatores que cooperam coma inativação do micro-organismo no ambiente. Como as amostras positivas tiveram origem em um local com grande fluxo de pessoas, sugere-se a criação de campanhas educativas visando à conscientização da população sobre o risco de contrair a criptococose e a importância de não alimentar os pombos em áreas de lazer, sendo a principal estratégia no controle populacional dos pombos.

**Palavras Chaves:** *Columba livia*. *Cryptococcus neorformans*. Criptococose.

## ABSTRACT

The pigeons (*Columba livia*) are among the animals that have a great adaptation in the urban centers. It is a species that is almost always present in cities whose presence in human dwellings can cause serious health problems, representing a potential risk to public health due to the possibility of transmitting zoonoses. These birds well adapted to urban circumstances proliferate easily and shelter in buildings. Their excreta, in addition to producing dirt, are a favorable medium for the development of parasitic microorganisms such as fungi, among them the cryptococcosis agent, *Cryptococcus neoformans*. Cryptococcosis, also known as European blastomycosis, is a potentially fatal, cosmopolitan fungal infectious disease that can affect domestic animals, wild animals and humans. Mossoró / RN is a city where pigeons can easily find shelters, especially in public places, such as in Rodolfo Fernandes Square, where there is contact with the population and food thrown there, to feed the pigeons. This experimental exploratory quantitative research aims to identify the fungus *Cryptococcus neoformans*, which is an encapsulated yeast and etiological agent of cryptococcosis in humans and animals and to make the population aware of not throwing food and taking care of their health to avoid acquiring the disease. This fungus is found in environmental sources, including pigeon feces, and is an important cause of mortality in immunocompromised individuals. A total of 54 samples were collected and plated with Sabouraud dextrose agar medium with chloramphenicol and incubated in greenhouses at 25 to 30 ° C and observed for 5 days, followed by the developed colonies, analyzed using an optical microscope the KOH and ink of china (nankin), being possible to identify the capillary yeast cells, characteristic of the genus *Cryptococcus*. Of the 54 samples, 36 were positive for *Cryptococcus neoformans*, having a positive percentage of 66.7%, not getting a higher index probably due to the dry period that the city is. The high temperature and low humidity are factors that cooperate with the inactivation of the microorganism in the environment. As the positive samples originated in a place with a great flow of people, it is suggested the creation of educational campaigns aimed at the population's awareness of the risk of contracting cryptococcosis and the importance of not feeding the pigeons in leisure areas. main strategy in pigeon population control.

**Keywords:** *Columba livia*. *Cryptococcus neoformans*. Cryptococcosis.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Pombo doméstico ( <i>Columba livia</i> ).....	10
FIGURA 2 – Amostras coletadas e armazenadas em coletores plásticos estéreis.....	15
FIGURA 3 – Amostras sendo trituradas com pistilo de porcelana previamente esterilizado...	15
FIGURA 4 – Adicionando água destilada nas amostras e homogeneização.....	16
FIGURA 5 – Semeio das amostras em Ágar Sabourand dextrosado, cloranfenicol.....	16
FIGURA 6 – Crescimento de colônias de <i>Cryptococcus neoformans</i> em placa de Ágar Sabourand dextrosado, com cloranfenicol.....	17
FIGURA 7 – Visualização ao microscópio do <i>Cryptococcus neoformans</i> , realizada com a tinta da China (100x, 400x e 1000x).....	17

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1 – Resultados obtidos em análises do material frente aos métodos utilizados.....18

## **LISTA DE SIGLAS**

KOH – Hidróxido de potássio

AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)

SNC – Sistema Nervoso Central

LCR - Líquido cefalorraquidiano

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	7
1.1 PROBLEMATIZAÇÃO .....	7
1.2 JUSTIFICATIVA .....	8
1.3 OBJETIVOS .....	8
1.3.1 Objetivo Geral .....	8
1.3.2 Objetivos Específicos .....	8
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	9
<b>3 CONSIDERAÇÕES METODOLÓGICAS</b> .....	14
3.1 TIPO DA PESQUISA .....	14
3.2 LOCAL DA PESQUISA .....	14
3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA .....	14
3.4 INSTRUMENTOS PARA COLETA DE DADOS .....	144
3.5 PROCEDIMENTO PARA COLETA DE DADOS .....	15
3.6 ANÁLISE DOS DADOS .....	157
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	18
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	18
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	200

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 PROBLEMATIZAÇÃO

A dificuldade da urbanização desalinhada das cidades, agregada à ausência de políticas de controle ambiental urbano, silvestre eficiente e rural, vem gerando, nos últimos anos, contrariedade e desafios na conexão homem/ambiente. Em vários locais, o pombo doméstico já obteve a condição de praga urbana, em mente de sua superpopulação, dos danos econômicos que gera e dos riscos que corresponde à saúde pública, tem como necessidade o seu controle populacional. Em alguns centros urbanos do Brasil torna-se habitual se deparar com a proliferação de pombos, havendo uma disponibilidade enorme de alimento, as circunstâncias climáticas são convenientes para reprodução e não são encontrados predadores naturais (falcões, felinos e gaviões) para um controle biológico competente (AGUIAR; LUCIANO; BEIJAMINI, 2011).

O pombo-doméstico se originou a partir do pombo-das-rochas (*Columba livia*) da Europa, norte da África, Ásia e Oriente Médio, que foi domesticada e inserida pelo homem em aproximadamente todo o mundo. Em vários lugares, os pombos domésticos que fugiram, desapareceram ou foram propositadamente soltos retornaram a uma condição selvagem ou semi-selvagem, dando início às populações ferais hoje resolvidas em várias cidades e também na zona rural. No Brasil, o pombo-doméstico foi inserido pelos europeus no século XVI, tendo-se adequadamente muito bem aos amplos centros urbanos, devido à capacidade de encontrar alimento e abrigo (BENCKE, 2007).

Os pombos alimentam-se de preferência de grãos e sementes colhidos em locais abertos. Pode se dizer que a expansão da atividade agrícola contribuiu para a expansão do habitat destas aves. Várias das deficiências no transporte e a armazenagem dos grãos no trato das diversas culturas, foram fatores de uma ampla contribuição para iniciar e fortalecer o vínculo entre o homem e o pombo. O seu ciclo reprodutivo é regulado pela disponibilidade de alimento. Existem inúmeros problemas encontrados pelo acúmulo de fezes, onde as penas e restos de ninhos, levam aos entupimentos de sistema de drenagem de águas de chuva, levando também ao comprometimento no funcionamento de equipamentos, etc. O problema mais grave é a grande quantidade de microrganismos patogênicos e fungos veiculados por estas aves, especialmente em seus excrementos (NUNES, 2003).

Os fungos são seres vivos que possuem uma organização celular e um DNA delimitado por um envoltório nuclear. É um grupo diverso na natureza, e na sua grande

maioria vivem de alimentos absorvendo substâncias orgânicas normalmente provenientes de matéria orgânica em decomposição, entretanto podem viver também como parasitas. São fonte de metabólitos secundários e outras substâncias tóxicas. São encontrados na superfície do corpo como colonizadores ambientais transitórios, porém, sua presença pode ser prejudicial, causando algumas infecções humanas (PEREIRA; BARROS, 2012).

O gênero *Cryptococcus* sp. é formado por 39 espécies, sendo *Cryptococcus neoformans* o mais predominante. É um fungo unicelular, leveduriforme, encapsulado, sua reprodução é assexuada, por brotamento e cissiparidade. O trato respiratório e o sistema nervoso central (SNC) são os locais mais acometidos por *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gatti*; além disso, podem ser passíveis de infecções, a pele, próstata, olhos, ossos, trato urinário e sangue. O fungo *Cryptococcus neoformans* tem uma distribuição mundial e o seu habitat natural são as excretas de aves, especialmente de *Columba livia* (pombos domésticos) (MENEZES *et al*, 2014; LIMA; KLAFKE; XAVIER, 2015).

## 1.2 JUSTIFICATIVA

Neste cenário, os fungos achados nos excrementos dessas aves podem causar doenças. Assim, pôr os pombos serem considerados pragas urbanas encontradas especialmente em praças públicas, hospitais, asilos, parques e ambientes de grande produção de alimentos, considerou-se importante identificar o fungo *Cryptococcus neoformans* encontrados nas fezes destas aves, com o intuito de conscientizar a população a não jogarem alimentos e terem mais cuidado em sua saúde ao aspirar poeira gerada pelas fezes, principalmente pessoas imunocomprometidas em tratamento com imunossupressores, leucêmicos, etc.

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 Objetivo Geral

Determinar a prevalência de *Cryptococcus neoformans* a partir da análise de amostras de fezes de pombos (*Columba livia*) coletadas na praça Rodolfo Fernandes, na cidade de Mossoró/RN.

### 1.3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Analisar amostras de fezes de pombos (*Columba livia*)
- ✓ Identificar o fungo *Cryptococcus neoformans* encontrados nessas amostras.
- ✓ Quantificar a presença do fungo *Cryptococcus neoformans* nas amostras de fezes.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

As aves domésticas, assim como pombos urbanos, têm sido vistas como reservatórios de agentes infecciosos de grande valor em saúde pública. Na questão epidemiológica, os pombos têm uma função significativa no processo de contaminação do meio ambiente e na separação de patógenos através da exoneração de suas excretas. A ação de frequentes e várias aproximações à população, à busca de alimento e abrigo, colabora para a passagem humana de agentes patogênicos. De modo comparável, o costume de pessoas se alimentarem em praças e em locais públicos, beneficia a proliferação desorganizada das mesmas, adicionando grandes chances de contaminação ambiental e de transmissão de doenças. Os pombos se alimentam preferentemente de sobras de alimentos atirados na rua, podendo também alimentar-se de restos de lixo, o que proporciona aos mesmos trabalharem como vetores para a transmissão de patógenos (SILVA; CAPUANO 2008).

Os pombos estão em quase todos os espaços do planeta tendo a eficácia de voar enormes distâncias. São mencionados como uma ameaça indispensável para a saúde pública por ser um reservatório de no mínimo 70 micro-organismos patogênicos diferente para os seres humanos, como bactérias, protozoários e fungos. Na região urbana estes animais se ajustaram aceleradamente a qualquer organização arquitetônica, mesmo em áreas despovoadas, que diversas vezes recordam estruturas do habitat selvagem. Seu tipo de alimentação é rico especialmente de grãos e sementes obtidos de regiões abertas. Sabe-se que a amplificação da atividade agrícola tem ajudado para o aumento do habitat destas aves, onde as diversas necessidades no carregamento e armazenagem dos grãos produzidos foram consideradas fatores de vasta contribuição para que se tivesse o início e o fortalecimento do vínculo estabelecido entre o pombo e o homem (NUNES, 2003; SOUZA; SCISLESKI; MARQUES, 2017).

A acumulação de fezes de pombos pode ajudar à inalação de microrganismos, através dos procedimentos de limpeza ou pela locomoção da ave em correntes de ar, na presença de redemoinhos conhecidos como anéis verticais (MIRANDA, 2014). Restos de comida atirados nas ruas e lixeiras abertas são banquetes para os pombos. Várias pessoas também dispõem simpatia pelas aves costumando assim deixar farelo de pão, milho e sementes trazendo ainda mais pombos para perto das edificações e praças (BECK, 2003).

O crescimento dessas aves nas cidades se dá devido ao desequilíbrio ambiental, em decorrência do crescimento urbano desordenado, onde não existe um programa de controle dessa espécie. Quando estão ausentes de seus inimigos naturais e são encontrados em

condições adequadas, suas populações aumentam aceleradamente. Hoje, os pombos fazem parte da paisagem urbana, proporcionando atividades de lazer aos dois grupos da população humana: crianças e idosos. Folcloricamente, os pombos foram associados à pureza, afeto, carinho, ingenuidade e sempre sendo usados como símbolo de paz e também sendo lembrando como alguns símbolos religiosos. Os pombos domésticos (*Columba livia*) (Figura 1) são conhecidos por serem agentes disseminadores de patógenos humanos, como bactérias e fungos, mesmo sem causar doenças ou exigir sintomas, ou seja, sendo assintomáticas (ARAÚJO; CARVALHO; ALBUQUERQUE, 2016; MARQUES *et al*, 2011).

**Figura 1** – Pombo doméstico (*Columba livia*)



**Fonte:** Adaptado de BENCKE, 2007.

As infecções fúngicas oportunistas são notadas com uma grande frequência em indivíduos imunocomprometidos, pacientes também acometidos por AIDS, e aqueles submetidos à terapêutica antineoplásica e a corticoidoterapia, se tornam mais susceptíveis a essas infecções. A criptococose vem tomando um papel de grande relevância dentre as infecções fúngicas oportunistas sendo classificada uma das micoses mais comuns nos indivíduos imunodeprimidos. Tem como agentes etiológicos, *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, que são encontrados na natureza principalmente em fezes de pombos, além de madeira em decomposição, mas podem viver em estado latente no organismo do homem (PEREIRA; BARROS, 2012).

A espécie *Cryptococcus neoformans* é a mais prevalente do gênero *Cryptococcus* sp., isolada nas excretas dos pombos (*Columba livia*), uma levedura que possui em sua estrutura uma cápsula composta de polissacarídeos antigênicos, na qual protege a célula leveduriforme da ação de fagócitos, tais como monócitos, neutrófilos e macrófagos, fator que vai contribuir

para a diminuição da resposta imunológica. Sua reprodução é realizada de forma assexuada, por brotamento ou cissiparidade. Essas leveduras sobrevivem nas excretas por vários meses, fazendo com que diversos substratos contaminados possam agir como fontes de infecção durante certo tempo prolongado. Entre outras características relevantes, o *Cryptococcus neoformans* possui grande relevância médica, por se tratar do agente etiológico da criptococose (MENEZES *et al*, 2014).

Existem duas variedades de *Cryptococcus neoformans*, o *Cryptococcus neoformans var. neoformans* (sorotipo A, D, e AD) e o *Cryptococcus neoformans var. gattii* (sorotipo B e C). O *Cryptococcus neoformans* em fezes de aves, acomete especialmente indivíduos imunodeprimidos. E o *gattii* é de nicho ecológico rural, apresentando propensão a causar doença em hospedeiro patógeno primário. Além disso, ambas as variedades exibem reação para o sistema nervoso central. A variedade *neoformans* é isolada do sangue e da urina e a variedade *gattii* ocasiona consolidações pulmonares, sendo detectada no escarro. Nos pacientes infectados com *Cryptococcus neoformans* a mortalidade é alta e nos infectados por *Cryptococcus gattii* na grande maioria há possibilidade de cirurgia pulmonar ou cerebral. A infecção pelo *Cryptococcus neoformans* acontece por meio da inalação de seus propágulos, sendo o pulmão, o local primário de infecção. É frequentemente assintomática, sendo caracterizado por um nódulo pulmonar solitário, parecido a um carcinoma. Pode também colonizar o sistema respiratório sem causar doença, sendo eliminada ou transforma-se numa forma latente. Além disso, pode causar pneumonia sintomática, ou seja, infiltrados pulmonares difusos. A levedura pode desloca-se para outras partes do corpo, exibindo tropismo pelo SNC, causando meningite, meningoencefalite ou encefalite. Eventualmente, o acometimento do SNC pode apresentar a forma de massa intercerebral expansiva, provocando uma deficiência neurológica focal. Outras ocorrências comuns da criptococose incluem lesões cutâneas ósseas osteolíticas (CONTIN *et al*, 2011; PINTO, 2011).

As meningites fúngicas são raras de se adquirir, ataca os indivíduos portadores de alguma imunodeficiência, como aqueles portadores do vírus HIV e de neoplasias do sistema linfóide, sendo bastante perigosas e requer um rápido tratamento para não deixar sequelas. A meningite de maior ocorrência é criptocócica, que é causada pelo fungo *Cryptococcus neoformans*. A infecção pode acontecer pela presença do fungo em frutas, pele de animais e de seres humanos, mas acontece principalmente pela inalação de excrementos secos de pombos em solo contaminado, continuando viável por até dois anos. Em seguida quando entra no organismo, dá-se à propagação do fungo pela corrente sanguínea, que vai atingindo os pulmões, rins, linfonodos, ossos, peles, próstata e finaliza sendo posto de imediato no sistema

nervoso central, principalmente nas meninges. Essa infecção é bastante rara em pessoas com um sistema imunológico funcional, sendo assim considerado como um fungo oportunista. Pessoas com sistema imunológico debilitado por algum transplante, cirurgia, uso de alguns medicamentos e o principal, portadores de doenças autoimunes, tem um risco bem maior de contaminação (MORAES; VITAL, 2013).

Quando o fungo entra no organismo do hospedeiro, os mesmos encontram uma série de mecanismos, específicos (da imunidade adquirida) e inespecíficos (da imunidade inata) que procuram eliminá-los de qualquer modo, representando através de um padrão de resposta Th1 e com a liberação de citocinas por estímulos de macrófagos. Existem estudos que o linfócito T dispõe uma eficácia reduzida no tecido cerebral, em semelhança ao que se observa em outros órgãos, como por exemplo o pulmão. A criptococose é uma das micoses que tem um fácil diagnóstico por exibir marcado tropismo neurológico, diagnóstico imunológico, abundância de elementos fúngicos no líquido e coloração tecidual específica. O diagnóstico da criptococose no sistema nervoso central pode ser feito através do exame micológico direto. Na microscopia, a levedura pode ser vista no escarro, LCR, lavado brônquico, pus de abscesso, aspirados de medula óssea e de gânglios, urina, fragmentos de tecidos. No cultivo, a cultura é o exame comprobatório da doença. No diagnóstico imunológico a detecção de antígeno capsular polissacarídeo de *Cryptococcus* sp. pela aglutinação do látex, pode ser realizada na urina, sangue e no LCR. Porém, na prática, a detecção de antígeno é realizada no LCR e no soro (KON *et al*, 2008).

O tratamento da criptococose é feito pelos antifúngicos Fluconazol, Itraconazol, Voriconazol, 5-fluocitosina e a anfotericina B. A medicação do indivíduo é estabelecida assim que se afirmar a criptococose, podendo ser dividida em três fases: fase de indução, manutenção e consolidação. Relacionado ao risco de infecção, ainda não são encontradas medidas preventivas, só atividades educativas como, medidas de controle da proliferação de pombos, os cuidados nos locais que possam acumular os excrementos e a orientação à umidificação das excretas antes de serem removidas (PIZANI; SANTOS, 2017).

Diversos são os problemas descobertos pela acumulação de fezes, sobras de ninhos e penas, levando ao entupimento de técnicas de drenagem das águas de chuva, envolvimento no desempenho de equipamentos variados e ameaças de contaminações em fontes de água e alimentos. Contudo, o mais grave é a extensa quantidade de microrganismos patogênicos apresentados por essas aves, principalmente em seus excrementos (CONTIN *et al*, 2011).

A forma de prevenção e controle seria na orientação da população das cidades, orientando para evitar em alimentar esses animais. Com a redução da oferta de alimentos

diminui o número de pombos. As indicações também são importantes para expandir outros métodos de comando e alertando das doenças que podem ser provocadas pela presença dos pombos. Utilização de telas, fechar aberturas por onde as aves entram com alvenaria ou algum material firme e seguro para deter o pouso e a nidificação. Existe uma substância que faz as aves se afastarem do local. E também vários produtos que são colocados sobre telhados, beirais, etc. As ações mudam de substâncias pegajosas, que em contato com as patas “grudam” elas na superfície, a substâncias inalatórias que os espantam (BECK, 2003).

### 3 CONSIDERAÇÕES METODOLÓGICAS

#### 3.1 TIPO DA PESQUISA

Trata-se de uma pesquisa de caráter experimental exploratória quantitativa.

Na pesquisa experimental, o experimento retrata um melhor exemplo de pesquisa científica. Basicamente, a pesquisa experimental consiste em estabelecer um objeto de estudo, distinguir as variáveis que seriam qualificadas de influenciá-lo, determinar formas de observação e de controle dos efeitos que a variável vai produzir no objeto (GIL, 2002).

A pesquisa exploratória tem como finalidade a caracterização inicial do problema, sua definição e também sua classificação. Estabelece o primeiro estágio de toda pesquisa científica (RODRIGUES *et al*, 2007).

A pesquisa quantitativa é aquela que lida com variáveis expressas na forma de dados numéricos e emprega recursos e técnicas estatísticas para analisá-los e classificá-los, tais como, a média, a porcentagem, o desvio padrão, o coeficiente de correlação e as regressões, etc. Os estudos quantitativos são mais aconselhados para o planejamento de ações coletivas, pois os seus resultados são passíveis de generalização, de preferência quando as amostras pesquisadas retratam, com fidelidade, a população de onde foram retiradas (FONTELLES *et al*, 2009).

#### 3.2 LOCAL DA PESQUISA

A pesquisa foi desenvolvida na Praça Rodolfo Fernandes conhecida popularmente como Praça do Pax, na cidade de Mossoró no Estado do Rio Grande Do Norte. A Praça Rodolfo Fernandes fica localizada no centro da cidade de Mossoró – RN.

#### 3.3 POPULAÇÃO E AMOSTRA

A população da pesquisa foram os Pombos encontrados na Praça Rodolfo Fernandes da cidade de Mossoró/RN. As amostras foram as excretas das aves coletadas na praça.

#### 3.4 INSTRUMENTOS PARA COLETA DE DADOS

As coletas procederam por meio de raspagem das excretas das aves com espátulas estéreis, armazenadas em coletores plásticos estéreis e transportadas ao Laboratório da Faculdade Nova Esperança de Mossoró, FACENE – RN.

### 3.5 PROCEDIMENTO PARA COLETA DE DADOS

A coleta foi realizada no dia 13 de novembro de 2018 às 15h30. Foram colhidas 54 amostras (todas enumeradas nos coletores) de excretas de pombos, na praça Rodolfo Fernandes, na cidade de Mossoró/RN. As amostras foram raspadas, pois estavam secas(dificuldade encontrada) e colocadas em coletores plásticos estéreis (Figura 2). Algumas das amostras estavam ressecadas e envelhecidas, devido ao período seco, baixa umidade e a temperatura elevada que se encontra a cidade, em torno de 36 – 39°C, dificultando assim a coleta de amostras adequadas para pesquisa. Pouquíssimas amostras foram colhidas na mesma hora que o pombo excretou. O material foi levado ao Laboratório da Faculdade Nova Esperança de Mossoró/RN, para posterior análise.

**Figura 2** – Amostras coletadas e armazenadas em coletores plásticos estéreis.



**Fonte:** Do autor, 2018.

As amostras foram trituradas com gral e pistilo de porcelanas (Figura 3), previamente esterilizados, adicionadas a uma pequena quantidade de água destilada e homogeneizadas (Figura 4).

**Figura 3** – Amostras sendo trituradas com pistilo de porcelana previamente esterilizado.



**Fonte:** Do autor, 2018.

**Figura 4** – Adicionando água destilada nas amostras e homogeneização.



**Fonte:** Do autor, 2018.

As amostras frescas, diluídas em água destilada, foram previamente examinadas ao microscópio óptico, utilizando a técnica micológica direta com a solução clareadora de KOH e a técnica da tinta da China.

Em seguida, foram semeadas em placas com meio ágar Sabourand com cloranfenicol (Figura 5) e incubadas em estufas com uma temperatura entre 25 e 30°C, sendo observadas por 05 dias.

**Figura 5** – Semeio das amostras em placas de Ágar Sabourand dextrosado, com cloranfenicol.



**Fonte:** Do autor, 2018.

Após obtenção de crescimento em placa de meio de cultura (Figura 6), as colônias suspeitas de *Criptococos* foram submetidas ao exame direto, por meio de montagens de lâminas com tinta da China e observado ao microscópio óptico (Figura 7), no qual as

leveduras com formas regulares, encapsuladas, globosas, arredondadas, unibrotantes ou multibrotantes e sem hifas ou pseudo-hifas, identificadas assim como *Cryptococcus neoformans*.

**Figura 6** – Crescimento de colônias de *Cryptococcus neoformans* em placa de Ágar Sabourand dextrosado, com cloranfenicol.



**Fonte:** Do autor, 2018.

**Figura 7** – Visualização ao microscópio do *Cryptococcus neoformans*, realizada com a tinta da China (100x, 400x e 1000x).



**Fonte:** Do autor, 2018.

### 3.6 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados obtidos foram formulados e distribuídos em tabelas do Microsoft Word.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 54 amostras analisadas (Tabela 1), 36 amostras foram positivas para *Cryptococcus neoformans*, totalizando um percentual de 66,7%.

**Tabela 1** – Resultados obtidos em análises do material frente aos métodos utilizados

Amostras	Exame direto das fezes diluídas Tinta da China (Nanquim)	Crescimento (Ágar Sabouraud Dextrose/clorafenicol)	Exame direto Tinta da China (Colônias)	Exame direto KOH (Colônias)
5, 6, 7, 8, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 27, 28, 35, 36, 41, 42, 46, 46, 49, 50.	Positivo	Colônias de cor creme, arredondadas e brilhantes	Positivo Cryptococcus sp.	Células leveduriformes (unibrotantes e isoladas)
3, 4, 25, 26, 33, 34, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 53, 54.	Negativo	Colônias de cor creme, arredondadas e brilhantes	Positivo Cryptococcus sp.	Células leveduriformes
1, 2, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 23, 24, 31, 32, 37, 38.	Negativo	Não houve crescimento de colônias	Não realizado	Não realizado

A relação entre o *Cryptococcus neoformans* e algumas espécies de aves, principalmente os pombos, tem visto que seus excrementos são considerados o substrato natural mais importante para o fungo. A criptococose vem sendo descrita principalmente em pacientes imunocomprometidos. A falta de informação da população, apontou a necessidade dessa pesquisa, onde vimos que houve um percentual considerável de amostras positivas. Então, esses resultados obtidos demonstraram que seria relevante aumentar o número de amostras e realizar coletas em diferentes estações de ano para a obtenção de maiores resultados.

Esta pesquisa tem diferença entre regiões frias como o sul, na qual é relatado por REOLON (2004), que fez uma pesquisa em que 100% das amostras apresentaram o *Cryptococcus neoformans*. Esses resultados foram influenciados devido às chuvas que ocorrem, em comparação com a seca e a temperatura da cidade de Mossoró/RN.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nesta pesquisa permitiram verificar a prevalência do fungo *Cryptococcus neoformans* que habita na Praça Rodolfo Fernandes, na cidade de Mossoró/RN. Foi um percentual de 66,7% de amostras positivas, devido ao período seco que se encontra a cidade. Mesmo assim, esses resultados demonstram a necessidade de alertar a população, através de campanhas educativas, sobre os riscos de contrair a criptococose e a importância de não alimentar os pombos em áreas de lazer, a principal estratégia no controle populacional dos pombos.

Entre os principais fatores responsáveis pela aquisição da criptococose está à inalação de propágulos fúngicos após exposição às excretas dos pombos e, entre as principais medidas a serem implementadas que venham a contribuir para prevenção, com o propósito de diminuir os riscos de contaminação humana, é a conscientização da população portadora de alguma doença de caráter imunológico, como as imunodeficiências, doenças relacionadas à terapia imunossupressora entre outras, para que nessas condições de saúde, evitar frequentar ambientes onde existam pombos ou aves, as quais possivelmente são portadoras de fungos do gênero *Cryptococcus* sp., conseqüentemente, estando essa parte da população, suscetível à infecção por esse microorganismo.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, Maryana Baioco; LUCIANO, Luzimar; BEIJAMINI, Vanessa. Avaliação dos riscos de contaminação relacionados com a superpopulação de *Columba livia* (pombos) em trabalhadores portuários avulsos. **Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde/Brazilian Journal of Health Research**, 2011.
- ARAÚJO, Cibele Daniel; CARVALHO, Francisco Gonçalves de; ALBUQUERQUE, Lidiamar Barbosa de;. Levantamento epidemiológico das Zoonoses transmitidas por pombos em Campo Grande-MS. **Multitemas**, n. 16, 2016.
- BECK, Pedro Viotti. **Estudo das infestações de pombos nas edificações da cidade de Brasília**. 2003.
- BENCKE, G. A. Pombos-domésticos: sugestões para o controle em Escolas Públicas Estaduais de Porto Alegre. Porto Alegre: **Museu de Ciências Naturais/FZB-RS/1ª CRE/SE**, 2007.
- CONTIN, Joelma Teixeira et al. **Ocorrência de *Cryptococcus neoformans* em fezes de pombos na cidade de Caratinga, MG-Brasil**. 2011.
- FONTELLES, Mauro José et al. Metodologia da pesquisa científica: diretrizes para a elaboração de um protocolo de pesquisa. **Revista Paraense de Medicina**, v. 23, n. 3, p. 1-8, 2009.
- GIL, Antônio Carlos. Como classificar as pesquisas. **Como elaborar projetos de pesquisa**, v. 4, p. 44-45, 2002.
- KON, Adriana Satie et al. Guidelines In Cryptococcosis - 2008 [consenso em Criptococose-2008]. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2008.
- LIMA, C. T.; KLAFKE, G. B.; XAVIER, M. O. *Cryptococcus* spp. em excretas de *Columba livia* (pombos domésticos) provenientes de um hospital universitário no Sul do Brasil. **ArqInstBiol**, v. 82, 2015.
- MARQUES, Tatiane et al. Avaliação da microbiota associada à *Pseudolynchia canariensis* coletadas em pombos domésticos (*Columba livia*). **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 9, n. 3, p. 224-228, 2011.
- MENEZES, Thaianna et al. *Cryptococcus* spp. em excretas de pombos (*Columba livia*) de áreas públicas de Lages, Santa Catarina. **Science And Animal Health**, v. 2, n. 2, p. 102-114, 2014.
- MORAES, Mônica França; VITAL, Liliana Patrícia. MENINGITE POR CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS—DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO. **Atas de Ciências da Saúde** (ISSN 2448-3753), v. 1, n. 4, 2013.
- NUNES, Vânia de Fátima Plaza. Pombos urbanos: o desafio de controle. **Biológico**. São Paulo, v. 65, n. 12, p. 9-92, 2003.
- PEREIRA, Tatiana Caroline Dias; BARROS, Rosângela Abreu Monteiro de;. *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*: PERSPECTIVAS SOBRE A ECO-EPIDEMIOLOGIA E NOVOS NICHOS ECOLÓGICOS. **FACIDER - Revista Científica**, v. 1, n. 1, 2012.

PINTO, Leonor Isabel Silva. **A criptococose meníngea em doentes com infecção VIH.** 2011.

PIZANI, Amanda Thaís; SANTOS, Marilene Oliveirados;. **CRIPTOCOCOSE EM PACIENTES HIV POSITIVOS: REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA.** *Revista Saúde UniToledo*, v. 1, n. 1, 2017.

REOLON, Aline; PEREZ, Leandro Reus Rodrigues; MEZZARI, Adelina. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *J Bras Patol Med Lab*, v. 40, n. 5, p. 293-8, 2004.

RODRIGUES, William Costa et al. **Metodologia científica.** Faetec/IST. Paracambi, p. 2-20, 2007.

SILVA, Jaqueline Otero; CAPUANO, Divani Maria. Ocorrência de *Cryptococcus* spp e de parasitas de interesse em saúde pública, nos excretas de pombos na cidade de Ribeirão Preto. São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 67, n. 2, p. 137-141, 2008.

SOUZA, André Luiz de; SCISLESKI, Márcia Sueli; MARQUES, Sandra Márcia Tietz. Avaliação parasitológica de excretas de pombos refugiados em edificações da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **PUBVET**, v. 11, p. 1074-1187, 2017.