

Resumo

## Contribuição para a história natural da criptococose: analisando espécimes vegetais e ar atmosférico de parques da cidade de São Paulo

Dulcilena de Matos Castro e Silva; Marcia de Souza Carvalho Melhem (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças – Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo – Brasil, 2013

### RESUMO

O papel principal que espécimes vegetais desempenham no ciclo de vida de fungos é fornecer matéria orgânica para sua proliferação e, nesse *habitat*, já foram descritas diversas espécies que podem causar infecção humana. Desse modo, é importante conhecer os nichos naturais de agentes com potencial patogênico, de modo a dar subsídios para medidas de prevenção e profilaxia para diminuir o risco de exposição humana. Dentre as espécies oportunistas, destacam-se membros do gênero *Cryptococcus* spp., que podem causar criptococose, uma das micoses sistêmicas mais letais na atualidade. O objetivo deste trabalho foi investigar a presença de *Cryptococcus* em nichos ambientais de parques da cidade de São Paulo, em particular, ocos de troncos de espécimes vegetais e ar atmosférico adjacente. Além disso, foi avaliado um novo meio de cultura para isolamento desses agentes. O estudo foi realizado com 45 exemplares, englobando 25 distintas espécies vegetais, localizados em 5 parques nas 5 regiões da cidade. A coleta, de material orgânico retirado de cada oco e ar adjacente ao espécime vegetal foi realizada trimestralmente, durante o período de um ano. Dois meios de cultura foram utilizados para isolamento de colônias de *Cryptococcus* spp., a saber: o meio clássico de *Guizzotia abssynica* (ágar niger) e um novo meio, denominado Dicloram Rosa Bengala modificado (DRBCm), que mostrou melhor desempenho para isolamento desses agentes. Cento e vinte e três isolados de *Cryptococcus* spp. foram obtidos de ocos vegetais (111; 90,2%) e ar atmosférico (12; 9,8%). Vinte (44,5%; 20/45) exemplares pertencentes a 19 espécies vegetais foram positivos para *Cryptococcus* spp. As espécies de *Cryptococcus* encontradas em ocos foram: *C. neoformans* (61,2%; 68/111), *C. laurentii* (30,6%; 34/111), *C. albidus* (2,7%; 3/111) e *C. terrestris* (1,8%; 2/111). Sessenta e oito isolados de *C. neoformans* foram obtidos de amostras de *Hymenaea courbaril* e a identificação molecular por PCR/RFLP indicou o tipo molecular VNI. Em uma das amostras positivas para *C. neoformans* foi verificada, também, a presença concomitante de *C. albidus*. Em 3,6% (4/111) dos isolados de oco, a espécie de *Cryptococcus* não pode ser identificada pelos métodos empregados no estudo. Os resultados das análises de ar atmosférico indicaram a ocorrência de: *C. laurentii* (66,8% 8/12), *C. albidus* (8,3%; 1/12), *C. humicola* (8,3%; 1/12), *C. flavescens* (8,3%; 1/12). Em 1 (8,3%; 1/12) isolado a espécie não pode ser identificada pelos métodos empregados. Quando comparadas as espécies de *Cryptococcus* encontradas no oco de tronco e no ar adjacente, verificou-se que em 5 coletas (50%, 5/10) elas foram equivalentes. A espécie *C. laurentii* foi verificada em todas essas 5 coletas, as quais foram realizadas em: *G. japônica*, *M. nictitans*, *E. speciosa*, *T. granulosa* e *L. japonicum*. Foi relatado, de modo inédito, o encontro de espécies de *Cryptococcus* nas seguintes espécies vegetais: *Vochysia tucanorum*; *Cedrela fissilis*; *Astronium flaxinifolium*; *Rapanea umbellata*; *Grybotria japônica*; *Machoenium nictitans*; *Spathodea campanulata*; *Plumeria rubr*; *Casuarina cunninghamiana* e *Astronium flaxinifolium*, ressaltando a amplitude de nichos ambientais desses agentes. Conclui-se que a contaminação por *Cryptococcus* spp. é extensa em espécimes vegetais de parques da cidade de São Paulo, assim como a possibilidade de dispersão aérea desses agentes. O encontro de *C. neoformans* do tipo molecular VNI em matéria orgânica de *Hymenaea courbaril* (Jatobá) foi pioneiro, indicando mais uma fonte potencial de infecção para o agente mais frequente de criptococose. O encontro de *C. albidus* junto a *C. neoformans* sugere a possibilidade de um marcador epidemiológico para o maior agente da criptococose mundial. Os resultados deste estudo permitem indicar um novo meio de cultura (DRBCm) para isolamento de *Cryptococcus* spp. a partir de amostras vegetais. Os dados deste estudo, somados aos de futuras investigações, que complementem a monitoração da ocorrência de agentes de criptococose em áreas de lazer da população urbana de São Paulo, constituem subsídios para medidas de vigilância sanitária para redução do risco de exposição da população a esses agentes oportunistas.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cryptococcus*. Plantas. Microbiologia do ar. Microbiologia ambiental.

Abstract

## Contribution to the natural history of cryptococcosis: analyzing plant specimens and atmospheric air parks in São Paulo City

Dulcilena de Matos Castro e Silva; Marcia de Souza Carvalho Melhem (orientadora)

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças – Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo – Brasil, 2013

### ABSTRACT

The main role of plant specimens in the life cycle of fungi is to provide organic matter to their proliferation. So, many species that cause human infection have been described in this habitat. It is important to know the natural niches of agents with pathogenic potential, allowing measures aiming prevention and prophylaxis to reduce the risk of human exposure. Among the opportunistic species, members of the genus *Cryptococcus* spp. are relevant, since they can cause cryptococcosis, one of the most lethal systemic mycoses nowadays. The objective of this study was to investigate the presence of *Cryptococcus* members in environmental niches of parks located in São Paulo city, in particular, hollow trunks of plant specimens and adjacent atmospheric air. In addition, we evaluated a new culture medium for the isolation of such agents. The study was performed with 45 trees, comprising 25 different plant species, located in five regions 5 parks located in the city. The collection of organic material removed from each hollow, and air adjacent to the specimen plant, was performed every three months during the period of one year. Two culture media were used for isolation of colonies of *Cryptococcus* spp.: the classic *Guizzotia abssynica* (niger agar) medium and a new medium, called modified Dicloran Rose Bengal (DRBCm) which showed better performance for detection of these agents. One hundred and twenty-three isolates of *Cryptococcus* spp. were obtained from tree hollows (111; 90.2%) and air (12; 9.8%) samples. Twenty (44.5%, 20/45) trees belonging to 19 species were positive for *Cryptococcus* spp. The following *Cryptococcus* species were found in hollow samples: *C. neoformans* (61.2%, 68/111), *C. laurentii* (30.6%, 34/111), *C. albidus* (2.7%, 3/111), and *C. terrestris* (1.8%, 2/111). Sixty-eight isolates of *C. neoformans* were obtained from samples of *Hymenaea courbaril*. Molecular identification by PCR / RFLP indicated the molecular type was VNI. One of the positive samples for *C. neoformans* isolates showed concomitant presence of an *C. albidus* isolate. In 3.6% (4/111) of isolates of hollow species identification of *Cryptococcus* couldn't determine by the methods employed in the study. The results of the study indicated the occurrence of atmospheric: *C. laurentii* (66.8% 8/12), *C. albidus* (8.3%, 1/12), *C. humicola* (8.3%, 1/12), and *C. flavescens* (8.3%, 1/12). In 1 (8.3%, 1/12) isolated the species can not be identified by the methods employed. Comparing the *Cryptococcus* species, found in the hollow and the adjacent air, it was found that in five (50%, 5/10) occasions they were equivalent. The species *C. laurentii* was observed in all these 5 occasions, which were involved the following tree species: *G. japonica*, *M. nictitans*, *E. speciosa*, *T. granulosa* and *L. japonicum*. It was reported, for the first time, the occurrence of *Cryptococcus* species in the following plant specimens: *Vochysia tucanorum*; *Cedrela fissilis*; *Astronium flaxinifolium*; *Rapanea umbellata*; *Gryobotria japonica*; *Machoenium nictitans*; *Spathodea campanulata*; *Plumeria rubr*; *Casuarina cunninghamiana* and *Astronium flaxinifolium*, highlighting the range of environmental niches of such agents. It is concluded that contamination by *Cryptococcus* spp. is extensive in plant specimens located in parks in São Paulo city. The possibility of aerial dispersion of these agents were suggested. The finding of *C. neoformans* VNI molecular type of organic matter from *Hymenaea courbaril* (Jatoba) is pioneer, indicating one more potential source of infection for the most frequent agent of cryptococcosis. The finding of *C. albidus* along *C. neoformans* suggests the possibility of an epidemiological marker for the main agent of cryptococcosis. The results of this study allow us to recommend a new culture medium (DRBCm) for isolation of *Cryptococcus* spp. from plants. Data from this study, along with those from future research may complement the monitoring of the occurrence of agents of cryptococcosis in recreational areas of the urban population of São Paulo, and constitute subsidies for health monitoring measures to reduce the risk of public exposure to these agents opportunistic.

**KEYWORDS:** Cryptococcus. Plants, Air microbiology, Environmental microbiology.