

**UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO**

**DIEGO MUZZILLI SALES**

**VERIFICAÇÃO DE *Cryptococcus neoformans* EM  
FEZES DE POMBOS EM UMA ESCOLA PÚBLICA DO  
MUNICÍPIO DE BAURU (SP)**

BAURU  
2016

**DIEGO MUZZILLI SALES**

**VERIFICAÇÃO DE *Cryptococcus neoformans* EM  
FEZES DE POMBOS EM UMA ESCOLA PÚBLICA DO  
MUNICÍPIO DE BAURU (SP)**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado para obter o grau de  
Bacharel em Ciências Biológicas do  
Centro de Ciências da Saúde, sob  
orientação da Profa. Dra. Maricê T. C.  
Domingues Heubel.

BAURU  
2016

S1637v Sales, Diego Muzzilli

Verificação de *Cryptococcus neoformans* em fezes de pombos em uma escola pública do município de Bauru (SP) / Diego Muzzilli Sales.-- 2016.  
24f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Maricê Thereza C. D. Heubel.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade do Sagrado Coração - Bauru – SP.

1. Pombos. 2. *Cryptococcus neoformans*. 3. Fezes. 4. Fungo. I. Heubel, Maricê Thereza Corrêia Domingues. II. Título.

**DIEGO MUZZILLI SALES**

**VERIFICAÇÃO DE *Cryptococcus neoformans* EM FEZES DE  
POMBOS EM UMA ESCOLA PÚBLICA DO MUNICÍPIO DE BAURU  
(SP)**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado para obter o grau de  
Bacharel em Ciências Biológicas  
do Centro de Ciências da Saúde,  
sob orientação da Profa. Dra.  
Maricê T. C. Domingues Heubel.

Banca examinadora:

---

Profª Dra. Maricê Thereza Corrêia Domingues Heubel

---

Profª Dra. Silvana Torossian Coradi

Bauru, 29 de novembro de 2016.

Dedico este trabalho aos meus pais, aos meus avós, a minha irmã e a professora Maricê.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, aos meus pais Nivaldo e Adriana, avós Leonardo, Inês, Maria e Abílio, minha irmã Gabriela e meu cunhado Marcos, pelo apoio desde o começo.

Aos meus amigos Felipe Coelho Lopes, Julia Corrêa, Nathalia Doneda, Juliana Sanchez, Carol Rinaldi, Patricia Morais, Patricia Alves, Carol Godoi, Marta Solange e Agnes Oliveira pelo suporte e conselhos necessários em toda a jornada da graduação.

A professora Maricê que me ajudou em toda a minha vida acadêmica e a Lígia Belmonte e Mariana Canassa pelo aprendizado no laboratório de Biologia.

## RESUMO

Os pombos atualmente representam uma grande ameaça a saúde pública do Brasil e inúmeros países pelo mundo. Além de transmitirem doenças causam muitos danos ambientais. Uma das principais doenças trazidas pelos pombos é a Criptococose, devido a inalação de leveduras. Esta doença é causada pelo fungo *Cryptococcus neoformans*. Uma infecção primária nos pulmões é a primeira ação do fungo, porém é quase sempre assintomática, sendo detectada apenas em radiografia de tórax de rotina. A consequência dessa doença pode ser patologias mais graves e severas como a meningite e pneumonia. O objetivo deste trabalho foi efetuar o levantamento de *Cryptococcus neoformans* em fezes de pombos em uma escola pública e de uma universidade particular do município de Bauru (SP). Foram coletadas amostras do município de Bauru (SP), em quadras esportivas (coberta e descoberta) de uma escola estadual no bairro Parque São Geraldo, e como controle, amostra no estacionamento de uma Universidade privada. O experimento foi realizado logo após a coleta. Para a pesquisa de fungos, um grama do triturado de fezes foi misturado a 20 mL de soro fisiológico 0,9% estéril, acrescido de 200 µL de tetraciclina. Esta suspensão foi homogeneizada por 10 minutos vigorosamente e mantida em repouso por 30 minutos em temperatura ambiente. Alíquotas de 100 µL do sobrenadante foram semeadas em tubos contendo ágar Sabouraud-dextrose, incubados a 30°C por sete dias. Após o crescimento de colônia fúngica, foi realizado novo repique em ágar Sabouraud-dextrose e novamente incubado a 30°C por 48 horas. Este foi isolado e utilizado na identificação de gênero e espécie. Para a identificação da espécie isolada inicialmente foi realizado esfregaço em lâmina com posterior coloração por Gram. Após análise microscópica da lâmina corada, foi realizado provas para identificação, conforme o resultado. As amostras coletadas na escola e na USC apresentaram resultados negativos para *Cryptococcus neoformans*. Apesar da presença de pombos nos locais, na escola há a retirada das fezes continuamente, de acordo com as orientações da direção, o que auxilia no ambiente mais saudável para crianças e adolescentes.

**Palavras-chaves:** Pombos. *Cryptococcus neoformans*. Fezes. Fungo.

## ABSTRACT

Pigeons currently pose a major threat to the public health from Brazil and many other countries around the world. In addition to transmitting diseases, they cause a considerable environmental damage. One of the main diseases brought by pigeons is the Cryptococcosis, through contact with the feces of these animals. This disease is caused by a fungus called *Cryptococcus neoformans*. A primary infection in the lungs is the first action of the fungus, but is asymptomatic, being detected only through chest radiography. The consequence of this disease maybe more and more severe pathologies like meningitis and pneumonia. The objective was to check the existence of *Cryptococcus neoformans* in pigeon feces in a public school and a private university in Bauru (SP). Samples were collected in sports courts (indoor and outdoor), a public school in the Parque São Geraldo neighborhood, and as a control, a sample in the parking lot from a private university. The experiment was performed shortly after the collection. For fungus research, one gram of the feces was mixed with 20 mL of sterile 0,9% saline, plus 200 µL of tetracycline. This suspension was vigorously homogenized for ten minutes and maintained in ambient temperature for thirty minutes. Aliquots of 100 µL of the supernatant were seeded in tubes containing Sabouraud-dextrose agar, incubated at 30°C for seven days. After the growth of fungal colony, a new procedure was realized with the sabouraud-dextrose Agar and then again incubated under 30°C for 48 hours. It was isolated and used in the identification. To the identification of the isolated species was initially performed on a smear subsequent staining by Gram. After microscopic analysis of the stained lamina, carried out tests for identification, according to the result. The samples collected from both places presented negative results for *Cryptococcus neoformans*. Despite the presence of pigeons, the school has a continuously cleaning routine, according to the guidance of the management, which makes the environment safer for the students.

**Keywords:** Pigeons. *Cryptococcus neoformans*. Feces. Fungus.



## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
1.1 OS POMBOS .....	8
1.2 A LEVEDURA <i>CRIPTOCOCCUS NEOFORMANS</i> .....	10
1.2.2 Morfologia e identificação .....	11
1.3 CRIPTOCOCOSE: PATOGENIA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS .....	12
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
3.1 MATERIAL .....	16
3.1.1 Área geográfica de estudo.....	16
3.2 MÉTODO.....	16
3.2.1 Processamento das amostras para a pesquisa de fungos .....	17
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>25</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>26</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 OS POMBOS

A inalação das fezes dos pombos é a principal maneira de correr o risco de contrair doenças graves, como a criptococose, e esse contato involuntário pode resultar em pneumonia ou meningite. No Brasil e em muitos outros países, os pombos são considerados pragas urbanas não só por serem transmissores de doenças, mas também por serem vistos como causadores de graves problemas ambientais. O pombo urbano da espécie *Columba livia domestica* é considerado “uma praga não pela quantidade e sim pelo risco que ele representa à saúde das pessoas”, de acordo com o biólogo Sérgio dos Santos Bocalini. A acidez de suas fezes causa prejuízos econômicos, tais como manchas na pintura dos carros, destruição de monumentos e entupimento de calhas, provocando infiltrações nos edifícios (ALONSO, 2015).

Originalmente, o *Columba livia livia* era uma ave selvagem oriunda da leste Europeu e norte da África, de acordo com Schuller (2005 apud MIRANDA; LADENDORFF; KNÖBL, 2014). Mas, há milhares de anos, ela passou a ser domesticada e, com a urbanização mundial, passou a ser muito presente nas cidades, e assim, surgiu o *Columba livia domestica*. E segundo consta, estas aves foram trazidas ao Brasil como animais de estimação em meados do século XVI e apresentaram grande facilidade de adaptação nos centros urbanos, favorecida pela ausência de predadores naturais, abundância de alimentos e locais para habitação. Existem outros tipos de pombos silvestres, mas não representam uma ameaça à saúde pública, como o pombão (ALONSO, 2015).

Em ambiente natural, os pombos vivem nas encostas e áreas rochosas, onde fazem seus ninhos. Nas cidades, eles se protegem do calor e do frio em forros sob os telhados, calhas e cantos de monumentos. Elas se adaptam muito bem às cidades e possuem uma elevada taxa de reprodução, onde uma pomba pode gerar até 15 filhotes em cinco posturas (ALONSO, 2015).

A instrução normativa IN nº 141, de 19 de dezembro de 2006, do IBAMA reconhece o pombo-comum como praga, sendo que a “ação emergencial é caracterizada pela necessidade premente de adoção de medidas de manejo ou

controle de fauna, motivadas por risco de vida iminente ou situação de calamidade...”. Entretanto, há necessidade de comunicar ao órgão previamente por meio de ofício, via postal ou eletrônica, além de que qualquer ação deva ser indicado um técnico para acompanhar as atividades.

Nos dias de hoje é possível evitar que os bandos de pombos criem ninhos em casa, por exemplo, calhas especiais e outros equipamentos usados para impedir que os pombos se alojem em lugares inacessíveis. Em último caso, quando há certeza de haver um foco da transmissão de doenças, é preciso capturá-los e abatê-los seguindo métodos humanitários, sem impor sofrimento (ALONSO, 2015).

Os pombos transmitem doenças tais como a toxoplasmose, histoplasmose, ornitose, além de bactérias como a salmonella e as dermatites, causadas por parasitas como o famoso "piolho de pombo". Uma das doenças apontadas como grave é a criptococose, causada por um fungo (*Cryptococcus neoformans*) encontrado em frutas, cereais, árvores e nas fezes dos pombos, que é o principal vetor (ALONSO, 2015).

No caso de uma grande concentração de pombos em determinada área, além do problema estático e da sujeira do local, considera-se um risco potencial à saúde pública, pois as fezes dessas aves são uma importante via de eliminação de microrganismos no meio ambiente. A inalação de microrganismos por humanos pode ocorrer devido as fezes de pombos acumuladas em determinado local, relacionada aos procedimentos de limpeza da área ou pelo deslocamento da ave em correntes de ar, na forma de redemoinhos chamados anéis vorticiais (MIRANDA; LADENDORFF; KNÖBL, 2014).

O alimento é sempre um fator limitante para a espécie, sendo que o bando busca locais com fartura de alimento. Em se tratando de escassez de alimento, o bando se desloca diariamente até o alimento, independente da distância. Esses animais podem passar a maior parte de seu tempo no dia, percorrendo um raio de ação de até 600 metros do seu local de moradia, em busca de alimento. A fartura de alimento está relacionada a maior capacidade reprodutiva, variando de 10 a 14 ovos por ano/fêmea, num período médio de quatro a seis anos. Os ninhos, normalmente, são reutilizados após o abandono

do primeiro casal, facilitando assim o aumento no número de indivíduos do bando (MIRANDA; LADENDORFF; KNÖBL, 2014).

Os excrementos de pássaros, particularmente de pombos, favorecem o crescimento do *Cryptococcus neoformans*, atuando como reservatório da infecção. O microrganismo cresce de modo exuberante em excrementos de pombos, sendo que os pássaros não estão infectados (BROOKS et al., 2009). Essa levedura já foi isolada em material oriundo de solo, principalmente contendo fezes de pombos, de ocos de árvores e de folhas de eucalipto. O fungo pode sobreviver em material dessecado por vários meses e até anos, sendo possível encontrar diversos substratos contaminados e esses passam a ser fonte de infecção durante um tempo prolongado (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Para ter contato direto com essas aves é necessário o uso de luvas e máscaras protetoras, para evitar a inalação das fezes depositadas (ALONSO, 2015).

### 1.2 A LEVEDURA *Cryptococcus neoformans*

O *C. neoformans* é uma levedura basidiomicética que possui uma cápsula de mucopolissacarídeo. O *C. neoformans* está distribuído mundialmente na natureza, sendo isolado facilmente nas fezes secas de pombos. A espécie causa criptococose, que ocorre após a inalação de células dessecadas de leveduras ou possivelmente por pequenos basidiosporos (BROOKS et al., 2009). O pulmão é o principal local da infecção, contudo o micro-organismo possui alta preferência pela disseminação sistêmica para o cérebro e as meninges. Ele é a principal causa de meningite fúngica, representando uma importante causa de morbidade e mortalidade em pacientes com AIDS e receptores de transplante. Ele também produz doença sistêmica em pessoas que não apresentam distúrbio imunológico subjacente aparente (MURRAY et al., 2008).

Dos pulmões, esta levedura neurotrópica migra tipicamente para o sistema nervoso central onde causam meningoencefalites. Porém, possuem a capacidade de infectar muitos outros órgãos (p. ex., a pele, olhos, próstata). O *C. neoformans* ocorre em pessoas imunocompetentes, mas com maior

frequência em pacientes com HIV/AIDS, doenças hematogênicas e outras condições imunossupressivas (BROOKS et al., 2009).

### 1.2.2 Morfologia e identificação

Em cultura, as espécies de *C. neoformans* produzem colônias mucóides esbranquiçadas em dois a três dias. A forma característica é unicelular com reprodução por divisão. Ao exame microscópico, culturas ou material clínico, as células esféricas em brotamento (com 5 a 10 µm de diâmetro) são circundadas por uma cápsula espessa que não sofre coloração pela tinta nanquim preta. Todas as espécies de *Cryptococcus*, incluindo diversas não-patogênicas, são encapsuladas e produzem urease (BROOKS et al., 2009), sendo suas cápsulas compostas por mucopolissacarídeo. Esta cápsula é necessária para a patogenicidade e é importante para o diagnóstico, tanto em termos de detecção de antígeno quanto para a coloração histológica específica (MURRAY et al., 2008).

Entretanto, o *C. neoformans* difere das espécies não-patogênicas de *Cryptococcus* pela habilidade de crescer a 37°C e a produção de lacase, uma fenol-oxidase que catalisa a formação de melanina a partir de substratos fenólicos apropriados, por exemplo, catecolaminas. Os isolados clínicos podem ser identificados pela demonstração da produção de lacase ou de um padrão específico de assimilação dos carboidratos. A importância 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. Os sorogrupos podem ser separados de acordo com a composição química do material capsular. O sorogrupo A/D é o mais freqüente e pode ser isolado em altas concentrações de fezes de pombo (30%) e caracteriza o *C. neoformans* var. *neoformans* (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

O sorogrupo A/D é o mais frequente e caracteriza as variedades *grubii* e *neoformans*. Entre os sorotipos, o A é o mais frequente. Devido ao aumento da incidência da Criptococose mundial, os estudos para a caracterização dos sorotipos tem contribuído com os estudos epidemiológicos desde microrganismo (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

O sorogrupo B/C é menos comum, apresentando maior incidência nas regiões tropicais e subtropicais, tendo sido isolado de folhas de eucalipto e, raramente, de materiais biológicos oriundos de pacientes com AIDS. O sorogrupo B/C identifica o *C. neoformans* var. *gattii* (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

É possível demonstrar a reprodução sexuada do microrganismo no laboratório, e a sua reprodução bem-sucedida leva à produção de micélios e basidiósporos (BROOKS et al., 2009).

### 1.3 CRIPTOCOCOSE: PATOGENIA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A criptococose também é denominada doença de Busse-Buschke, turulose ou blasomicos e européia (MURRAY et al., 2000). Essa infecção é uma micose oportunística, e existem relatos clínicos em indivíduos não imunocomprometidos. É considerada uma das principais infecções em pacientes com AIDS, apresentando alta morbidade e mortalidade (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

Como a forma encontrada no meio ambiente é a capsulada, com diâmetro muito pequeno (menor que 1  $\mu\text{m}$ ), isto favorece sua penetração nos alvéolos pulmonares. Ao ser inalado, o fungo atinge primeiramente os pulmões, e com tropismo para o sistema nervoso central, pode ocasionar meningite criptocócica. Ao atingir o SNC, o êxito no tratamento está na dependência do diagnóstico precoce e do estado geral do indivíduo (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

As infecções pulmonares primárias são, normalmente, assintomáticas, e podem ser detectadas como achado incidental em radiografia de tórax de rotina. É observada a presença de nódulo pulmonar solidificado, assemelhando-se a um carcinoma. O diagnóstico correto é realizado a partir da remoção da massa. Há relato de que pode também produzir uma pneumonia sintomática, com infiltrados pulmonares difusos (MURRAY et al., 2000).

Como dito anteriormente, com a disseminação hematogênica da levedura dos pulmões para as meninges, configura a meningite criptocócica, sendo considerada a forma de criptococose mais frequentemente diagnosticada. Os sintomas incluem associações de cefaléia, alterações do

estado mental e febre por várias semanas. Ocasionalmente, ainda no SNC pode assumir a forma de massa intracerebral expansiva que causa deficiências neurológicas focais. Há relatos de criptococose que apresentam lesões cutâneas e lesões ósseas osteolíticas (MIMS et al., 1999; MURRAY et al., 2000; MIMS et al., 2005), e ainda olhos e próstata, reação inflamatória é considerada mínima ou granulomatosa (BROOKS et al., 2009).

Os medicamentos utilizados no tratamento são: anfotericina isolada ou associada afluocitosina (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008; BROOKS et al., 2009), e mais recentemente, o fluconazol tem sido empregado (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

O prognóstico depende principalmente da doença de base e da gravidade do imunocomprometimento, sendo que os índices de mortalidade chegam a aproximadamente 50%. E em pacientes com AIDS, fica quase impossível de erradicar o fungo, mesmo que o tratamento seja intensivo (MIMS et al., 1999; MIMS et al.; 2005).

O ser humano que entrar em contato com pombos e sentir febre alta, calafrios e dor de cabeça deve procurar um médico urgente para evitar infecções por fungos ou infecções pulmonares. Os sintomas podem ainda incluir dor no peito, rigidez na nuca, sudorese noturna, confusão mental, alterações de visão, corrimento nasal, dispnéia, espirros, dor de cabeça, náusea, vômitos, fotossensibilidade, febre, fraqueza, lesões na pele, perda de coordenação motora e perda da fala (ALONSO, 2015).

O risco que os pombos trazem à saúde pública é comprovado há muitos anos. Diversas pesquisas na área mostram que a *Columba livia domestica* transmite mais de 70 doenças, entre elas a criptococose, que é o objeto de estudo deste projeto. É necessário que haja mais análises de cada grupo de pombos encontrados nas áreas urbanas para que possamos identificar e descobrir formas de combater este animal que é considerado uma praga urbana em todo o Brasil (CONTIN et al., 2011).

Este trabalho busca a identificação do fungo *Cryptococcus neoformans* em fezes de pombos em uma escola pública e, assim que identificado, propor soluções para a direção escolar combater a praga. Outra intenção seria levar os resultados obtidos neste projeto para a prefeitura, sugerir que fizessem

outras pesquisas do tipo em várias áreas da cidade e assim levantar um mapa epidemiológico das patologias que os pombos trazem para a sociedade. Com isso, verificaria a possibilidade de um plano de ação para o combate ao pombo doméstico, evitando que a população se contamine com as enfermidades trazidas pela ave.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

O projeto visou realizar o levantamento de *Cryptococcus neoformans* em fezes de pombos em uma escola pública e de uma universidade particular do município de Bauru (SP).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- realizar o levantamento de áreas com a presença de pombos;
- coletar as fezes;
- verificar a presença de *C. neoformans* nas fezes;
- propor medidas preventivas em saúde pública nas áreas com fezes contaminadas.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

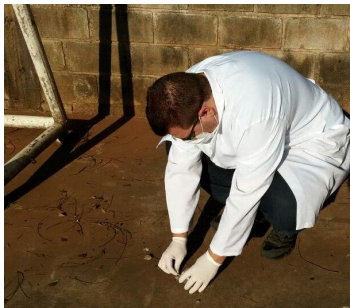
#### 3.1 MATERIAL

Foram obtidas amostras de fezes de pombos, recolhidos de ambiente urbano, da cidade de Bauru (SP). As três amostras encontradas foram acondicionadas em pote plástico estéril a partir de uma espátula de madeira (estéril).

##### 3.1.1 Área geográfica de estudo

Foram coletadas três amostras do município de Bauru (SP), em quadras esportivas (coberta e descoberta) de uma escola estadual no bairro Parque São Geraldo (Figura 1), e como controle, amostra no estacionamento de uma Universidade privada.

Figura 1 – Coleta de fezes de pombos na escola estadual



Fonte: elaborado pelo autor



Fonte: elaborado pelo autor

#### 3.2 MÉTODO

O experimento foi realizado no Laboratório de Biociências II da Universidade do Sagrado Coração, logo após a coleta, em bancada e exposição a bico de Bunsen. As fezes foram maceradas com o auxílio de um bastão de vidro até adquirir um aspecto triturado e homogêneo, facilitando sua diluição e utilizado na pesquisa de fungos.

### 3.2.1 Processamento das amostras para pesquisa de fungos

Para a pesquisa de fungos, um grama do triturado de fezes foi misturado a 20 mL de soro fisiológico 0,9% estéril, acrescido de 200 µL de tetraciclina. Esta suspensão foi homogeneizada por 10 minutos vigorosamente e mantida em repouso por 30 minutos em temperatura ambiente. Alíquotas de 100 µL do sobrenadante foram semeadas em tubos contendo ágar Sabouraud-dextrose, incubados a 30°C por sete dias.

Figura 2 – Preparo das amostras de fezes de pombos no laboratório



Fonte: elaborado pelo autor



Fonte: elaborado pelo autor

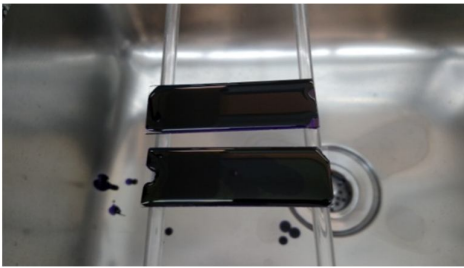
Após o crescimento de colônia fúngica, foi realizado novo repique em ágar Sabouraud-dextrose e novamente incubado a 30°C por 48 horas. Este foi isolado e utilizado na identificação de gênero e espécie.

Para a identificação da espécie isolada inicialmente foi realizado esfregaço em lâmina com posterior coloração por Gram. Após análise microscópica da lâmina corada, foram realizadas provas para identificação do microorganismo.

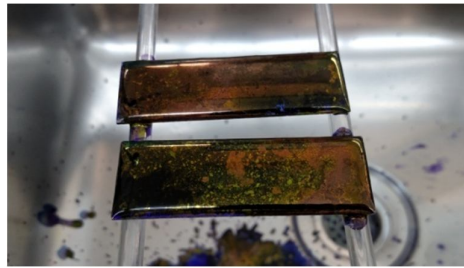
Se a cultura isolada apresentasse colônia com características macroscópicas do gênero *Cryptococcus*, seria realizada a coloração com tinta nanquim preta, e a presença de cápsula brilhante e não corada confirmaria a presença do gênero. A colônia seria então inoculada em ágar ureia, incubada a 37°C por 24 horas. A prova da urease teria a finalidade de confirmar o gênero, com a viragem de cor de amarelo para rosa.

Figura 3 – Etapas da coloração de Gram realizadas no presente trabalho

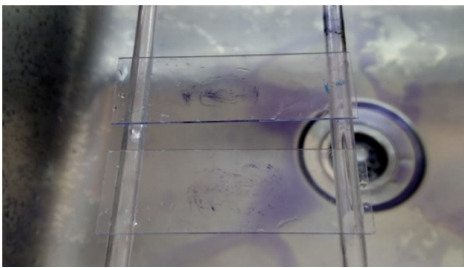
A Coloração com Violeta de Cresil



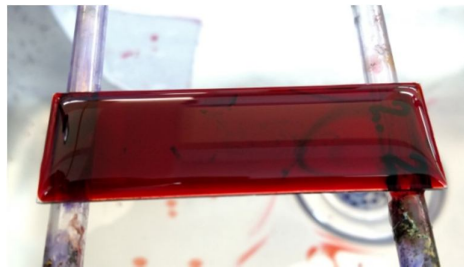
B Acréscimo de lugol



C Descoloração com álcool-acetona



D Coloração por Safranina



Fonte: elaborado pelo autor

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas as análises de dois locais de coleta na escola (Quadra Coberta e Quadra Descoberta), onde foram encontradas fezes secas e semi úmidas de pombos. O material foi coletado e transportado ao laboratório de Biologia da USC para análise. Como controle, e no mesmo dia, foram coletadas fezes de pombos do estacionamento de uma universidade particular de Bauru (SP).

Após os sete dias de incubação, o material foi repicado e incubado novamente por mais dois dias, e assim, realizada a análise pelo método de coloração de Gram para depois seguir a análise pela coloração por Nanquim.

As amostras coletadas na escola e na universidade apresentaram resultados negativos para *Cryptococcus*, como apresentado no Quadro 1. Apesar da presença de pombos nos locais, na escola há a retirada das fezes continuamente, de acordo com as orientações da direção, o que auxilia no ambiente mais saudável para crianças e adolescentes.

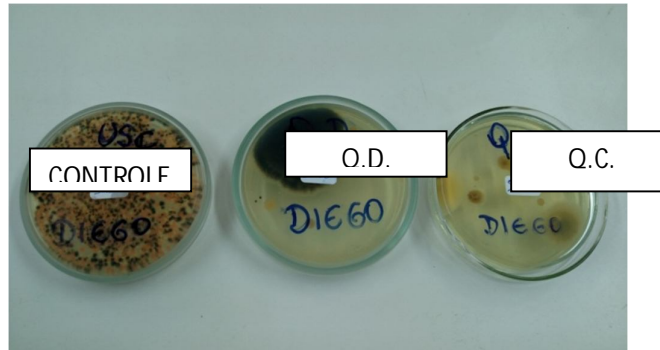
Quadro 1 – Resultados de *Cryptococcus neoformans* nas amostras Controle e Escola

Local	Resultado
Controle (Universidade privada)	Negativo
Escola – Quadra Descoberta	Negativo
Escola – Quadra Coberta	Negativo

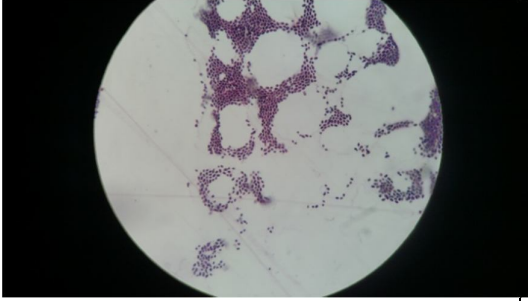

Alguns autores pesquisaram em outras cidades brasileiras, como Filiú et al. (2002), coletando 20 amostras na cidade de Campo Grande (MS). Foram encontradas 10 positivas para *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, correspondentes a 3 locais positivos. A contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) de *C. neoformans* foi realizada em todas as amostras positivas. Este resultado comprovou a ocorrência saprofítica de *C. neoformans* na cidade de Campo Grande, relacionada a habitat de aves em cativeiro.

No presente trabalho também foram constatados outros microrganismos (Quadro 2 e Figura 4), como bactérias e fungos (hifas). Entretanto, há necessidade de outros estudos para a identificação dos mesmos.

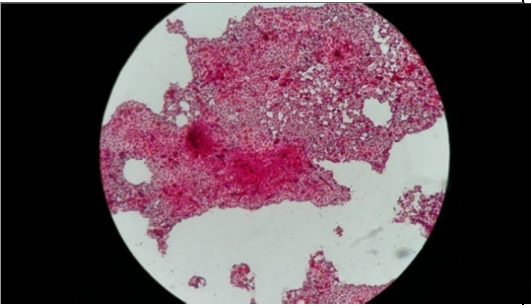
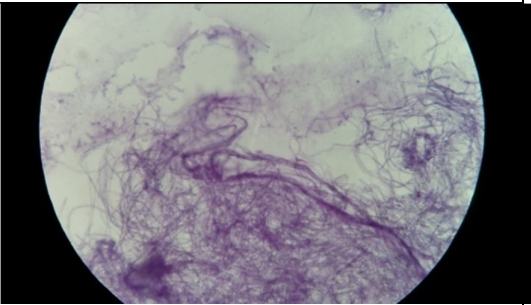
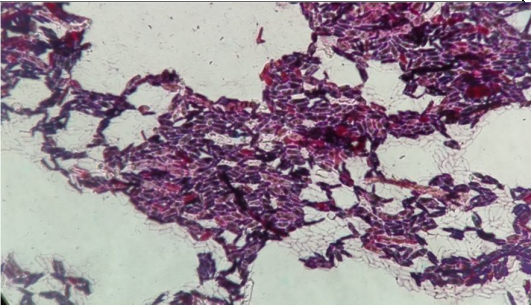
Figura 4 – Placas de ágar Sabouraud-dextrose incubada a 30°C por 48 horas com as amostras controle (universidade particular) e das quadras esportivas (descoberta= Q.D. e coberta= Q.C.)



Quadro 2 – Resultados gerais das amostras de fezes de pombos coletados na escola pública e na universidade particular de Bauru (SP)

Local	Outros organismos	Características	Imagens após coloração
Controle - USC	Bactérias	<ul style="list-style-type: none"> <li>- meio coloração roxa</li> <li>- coloração de Gram: positiva</li> </ul>	
Escola – Quadra Descoberta	Fungos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- meios de cultura: coloração esverdeada</li> <li>- Coloração: violeta de cresil</li> <li>– presença de hifas</li> </ul>	

Quadro 3 – Resultados gerais das amostras de fezes de pombos coletados na escola pública e na universidade particular de Bauru (SP)

Local	Outros organismos	Características	Imagens após coloração
Escola – Quadra Descoberta	Bactérias	- meio de cultura: coloração esbranquiçada - Coloração de Gram: bacilos – Gram negativo	
Escola – Quadra Coberta	Fungos	- meios de cultura: coloração esverdeada - Coloração: violeta de cresil – presença de hifas	
Escola – Quadra Coberta	Bactérias	- meio de cultura: coloração esbranquiçada - coloração: bacilos – Gram positivo	

Na cidade do Rio de Janeiro (RJ) foi avaliada a presença de *C.neoformans* em dez igrejas, no período de um ano, com a coleta de amostras de fezes de pombos, amostras de ar das torres das igrejas e de áreas adjuntas. Os resultados alcançados mostraram que o fungo estava presente em todas as igrejas e em 37,8% das 219 amostras de excretas de pombos. Quinze das



amostras de ar foram positivas. Ademais, o *C. neoformans* foi isolado do solo, insetos, ovos e ninhos de pombos. A presença do fungo da criptococose em torres de igrejas e áreas adjacentes poderia estar alusiva às condições ambientais que favorecem o crescimento do agente etiológico, como temperatura moderada do ar, imensa quantidade de excreta de pombos, abrigo contra a radiação solar e um pH próprio (BARONI et al., 2006).

Segundo a pesquisa de Carvalho et al. (2007) dez amostras de fezes de pombos foram coletadas da zona rural da cidade de Alfenas (MG) com o propósito de verificar a presença do fungo nas fezes de pombos. O isolamento foi feito em ágar Níger e 22 isolados com características de *Cryptococcus neoformans* foram identificados. Entre as 22 amostras avaliadas, 8 foram constatadas como *C. neoformans*. As fezes de pombos constituem reservatório para *C. neoformans*, conforme ficou demonstrado nesta pesquisa. Mais uma vez é provada a importância das fezes como receptáculo do *C. neoformans*.

Conforme o trabalho de Silva e Capuano (2008) na cidade de Ribeirão Preto (SP), foram encontrados *Cryptococcus* sp em 75% das amostras. Entre os isolados de *Cryptococcus* foram identificados *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus unigutulatus*, *Cryptococcus laurentii* associado com *Cryptococcus albidus* e *Cryptococcus unigutulatus* associado com *Cryptococcus laurentii*. A taxa de amostragem com referência aos locais de coleta foi de 100% na Catedral Metropolitana, 91% na Feira de Artes e Artesanato, 73% na Praça Coração de Maria e 40% no Terminal Rodoviário. Ressalta-se que em todos os exemplares obtidas das lonas das 4 barracas de alimentos (garapa, coco verde e salgados) da Feira de Artes e Artesanato foram observados *Cryptococcus* spp e/ou parasitos. Ainda que não tenha sido isolado *Cryptococcus neoformans*, foram encontradas três espécies pertencentes ao gênero *Cryptococcus* sendo que estas já foram descritas como agentes etiológicos da meningite, afecções pulmonares, abscessos edermatomicoses.

O trabalho de Marinho et al. (2010) analisou a microbiota fúngica de passeriformes de cativeiros na Região Noroeste do Estado de São Paulo, sendo encontrado 25,0% de *Penicillium* spp., 19,4% de *Trichosporon* spp., 13,9% de *C. gattii*, 11,1% de *C. neoformans*, 11,1% de *Candida* spp., 8,3% de *Rhizomucor* spp., 8,3% de *Aspergillus* spp., 2,8% de *Nigrospora* spp. e 2,8% de

*Geotrichum* spp. Os autores apontam que os pássaros eliminam continuamente microrganismos patogênicos em suas fezes, atuando de forma definitiva na ecoepidemiologia de doenças infecciosas.

Em Araçatuba (SP) foram encontrados microfocos para *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* e leveduras correlatas com potencial de contaminação, seja pela dispersão de propágulos no ambiente carregados pela ação do vento, ou ainda, pela inalação das partículas. Isto acarreta em doenças no homem e em animais, representando risco populacional, constatando a necessidade da implantação de medida preventiva, como a higienização de locais de acesso público, a fim de diminuir os focos de exposição (COLOMBO et al., 2015).

Foi possível verificar que trabalhos recentes apontam as fezes dos pombos como principal foco de agentes patogênicos e que medidas preventivas para redução do número de animais em áreas urbanas são necessárias ainda no Brasil. Mesmo com o resultado negativo obtido no trabalho talvez pelo baixo número de amostras, nossas escolas devem continuar o monitoramento e higiene nos diversos ambientes.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho realizou um levantamento de *Cryptococcus neoformans* em fezes de pombos em uma escola de um bairro da região norte do município de Bauru (SP) e em uma universidade particular da mesma cidade, com resultado negativo. Entretanto, há necessidade de manter a conduta na escola de remoção das fezes desses animais e constantemente um monitoramento, pois, de acordo com a literatura, apresenta-se como foco de microrganismos patogênicos em suas fezes em cidades brasileiras.

## REFERÊNCIAS

- ALONSO, G. Os pombos da paz também podem matar. **O Biólogo** - Revista do Conselho Regional de Biologia, São Paulo, ano IX, n. 36, p. 12 – 15, out./ nov./ dez. 2015.
- BARONI F.A. et al. *Cryptococcus neoformans* strains isolated from church towers in Rio de Janeiro city, RJ, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 48, n. 2, p. 71-75, 2006.
- BROOKS, G. F. et al. **Jawetz, Melnick e Adelberg**: Microbiologia médica. 24. ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2009.
- CARVALHO, V.G. et al. Serotype and mating type characterization of *Cryptococcus neoformans* by Multiplex PCR. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 49, n 4, p. 207-210, 2007.
- COLOMBO, G. et al. Caracterização bioquímica e molecular de *Cryptococcus* spp. isolados de excretas ambientais de pombos (*Columba livia domestica*). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 67, n. 6, p. 1639-1645, dez. 2015. Disponível em <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010209352015000601639&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010209352015000601639&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 04 nov. 2016.
- CONTIN, J. T.; QUARESMA, G. S.; SILVA, E. F.; LINARDI, V. R.; Ocorrência de *Cryptococcus neoformans* em fezes de pombos na cidade de Caratinga, Minas Gerais, Brasil, **Ver. Med. Minas Gerais**, v. 21 (1), p. 19-24, 2011.
- IBAMA. Instrução Normativa no. 141, de 19 de dezembro de 2006. Disponível em: <[http://www.ambiente.sp.gov.br/fauna/files/2015/09/documentos\\_legislao\\_25.pdf](http://www.ambiente.sp.gov.br/fauna/files/2015/09/documentos_legislao_25.pdf)>. Acesso em: 10 jun. 2016.
- FILIU, W. F. O. et al. .Cativeiro de aves como fonte 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, Dec. 2002 . Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003786822002000600008&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003786822002000600008&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em:04 nov. 2016.
- MARINHO, M. et al. Microbiota fúngica de passeriformes de cativeiros da Região Noroeste do Estado de São Paulo. **Veterinária e Zootecnia**, v. 17, n. 2, p. 288-292, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/132984>>. Acesso em: 4 nov. 2016.
- MIRANDA, C.; LADENDORFF, N.; KNÖBL, T. Percepção da população sobre a participação dos pombos (*Columba livia domestica*) na transmissão de zoonoses. **Asa**, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 23-28, Jan/Abr. 2014.

MIMS, C. **Microbiologia médica**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1999.

MIMS, C. et al. **Microbiologia médica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

MURRAY, P. R. **Microbiologia médica**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

SILVA, J.O.; CAPUANO, D.M. Ocorrência de *Cryptococcus* spp e de parasitas de interesse em saúde pública, nos excretas de pombos na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 67, n. 2, p. 137-141, 2008.

SCHULLER, M. Pombos urbanos: um caso de saúde pública. In: MIRANDA, C.; LADENDORFF, N.; KNÖBL, T. Percepção da população sobre a participação dos pombos (*Columba livia domestica*) na transmissão de zoonoses. **Asa**, São Paulo, v. 2, n. 1, p. 23-28, jan./abr. 2014.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.