



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

JÚLIA FERNANDA RIBEIRO DO NASCIMENTO

CRIOCOCOSE EM PEQUENOS RUMINANTES NO ESTADO DA PARAÍBA

AREIA
2023

JÚLIA FERNANDA RIBEIRO DO NASCIMENTO

CRIPTOCOCOSE EM PEQUENOS RUMINANTES NO ESTADO DA PARAÍBA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Inácio José Clementino

**AREIA
2023**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

N244c Nascimento, Júlia Fernanda Ribeiro do.
Criptococose em pequenos ruminantes no Estado da
Paraíba / Júlia Fernanda Ribeiro do Nascimento. -
Areia:UFPB/CCA, 2023.
64 f. : il.

Orientação: Inácio José Clementino.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Ciência Animal. 2. Criptococose. 3. Cryptococcus.
4. Ovino. 5. Caprino. I. Clementino, Inácio José. II.
Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09(043.3)



JÚLIA FERNANDA RIBEIRO DO NASCIMENTO

CRIPCOCOCOSE EM PEQUENOS RUMINANTES NO ESTADO DA PARAÍBA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração Saúde Animal no Brejo Paraibano.

APROVADA EM 28/07/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. INÁCIO JOSÉ CLEMENTINO

UFPB

Orientador

Dr^a. RAQUEL ANNES FAGUNDES SILVA

UFRPE

Examinadora

Dr. JACKSON SUÉLIO DE VASCONCELOS

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro – UTAD

Examinador

Ao meu esposo, Áleff Walisson Rocha Gomes,
pelo companheirismo, apoio e dedicação,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus, em quem deposito minha fé. Foi Ele que colocou em meu coração o desejo de realizar o mestrado, me sustentou nos momentos mais difíceis durante a pesquisa e colocou pessoas em minha vida para que me ajudassem na caminhada. É Ele quem tem os melhores sonhos para mim, sei que por meio dEle posso ir mais além.

Ao meu esposo Áleff Walisson Rocha Gomes, quem esteve comigo desde o início da pesquisa, me ajudando nas coletas, sendo meu incentivo a cada dia e se dedicando tanto quanto eu para que concluíssemos essa etapa.

Aos meus pais Maria do Socorro Ribeiro do Nascimento e Iranildo Fernandes do Nascimento, que mesmo longe estavam sempre me apoiando e que também tiveram sua contribuição para que essa pesquisa fosse realizada. Enfrentamos momentos muito difíceis durante os dois anos de mestrado, mas o Senhor nos sustentou.

Agradeço a toda minha família, minha irmã Flávia, minhas primas Laryssa e Hellen, meus tios Selmo e Adriana, minhas amigas Emanuela e Karollainy e a todos os amigos do “Grupo da reunião” por todo apoio, por sempre acreditarem no meu potencial e me incentivarem.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Inácio José Clementino, por ter me aceito como sua orientada, por toda paciência e dedicação para a realização deste trabalho.

Aos meninos do Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da UFPB, Yago, Diogo, Edivaldo e Anderson, que estavam sempre dispostos a me ajudar.

Ao secretário do PPGCAN, Jozenio, por todo o auxílio na parte burocrática.

Agradeço também à CAPES pelo financiamento da pesquisa.

Esse título também é de todos vocês. Muito obrigada!

Até aqui nos ajudou o Senhor!

RESUMO GERAL

A criptococose é uma micose causada por leveduras do gênero *Cryptococcus*, afetando o trato respiratório, podendo disseminar-se para o cérebro, outros órgãos e pele. A infecção é adquirida sobretudo por inalação de propágulos do fungo em ambientes contaminados contendo fezes secas de aves, principalmente de pombos, madeira em decomposição e ocos de árvores. A doença ocorre em humanos e diversas espécies animais, sendo rara em pequenos ruminantes. Sendo assim, este trabalho objetivou relatar casos de criptococose em ovino e caprino no estado da Paraíba. A dissertação foi dividida em três capítulos. O capítulo I é uma revisão de literatura sobre os aspectos da criptococose; o capítulo II relata o primeiro caso de criptococose disseminada em ovino; e o capítulo III relata um caso de criptococose cutânea em cabra. Caso 1: ovino da raça Santa Inês, macho, quatro anos de idade, com histórico de claudicação e aumento de volume do escroto que, ao exame físico, apresentava apatia, secreção nasal serosa e úlceras nas cavidades nasais, claudicação grave, leve aumento de volume na região dos boletos, nódulos subcutâneos e aumento acentuado do escroto com nódulos nos testículos. Caso 2: caprino, SRD, fêmea, pesando 26 kg, com queixa principal de diarreia líquida fétida. Ao exame físico, apresentava apatia, mucosas de cor porcelana, presença de ectoparasitas e lesões cutâneas na face. Em seguida observou-se tosse produtiva, ruídos inspiratórios e fistulação da lesão cutânea. Realizou-se citologia e cultura de amostras de ambos os animais. As citologias de ambas as amostras apresentavam inúmeras formas leveduriformes envoltas por halo claro compatíveis com *Cryptococcus* spp., sendo isoladas colônias de leveduras com características de *Cryptococcus* spp. Devido ao prognóstico desfavorável, os produtores optaram pela realização da eutanásia. À necropsia, observou-se: caso 1 (ovino) – lesões granulomatosas disseminadas e acentuadas afetando pele e tecido subcutâneo, linfonodos, cavidade nasal, testículos e epidídimos, além de osteomielite granulomatosa acentuada nos ossos incisivos, palato, na placa cribriforme, ossos do carpo, nasal e frontal. Lesões constituídas por grande quantidade de macrófagos, linfócitos, plasmócitos, alguns neutrófilos e raras células gigantes multinucleadas e inúmeras leveduras rodeadas por espessa cápsula; caso 2 (caprino) - aumento de volume com discreta secreção serossanguinolenta no tecido cutâneo da face, caracterizada microscopicamente como necrose focalmente extensa, caracterizada por infiltrado inflamatório mononuclear, com algumas leveduras capsuladas. Durante a necrópsia de ambos os animais colheu-se amostras para cultura fúngica. Na cultura de todas as amostras foram isoladas leveduras sugestivas de *Cryptococcus* spp., que foram submetidas à análise pela técnica de espectrofotometria de massa (MALDI-TOF) com identificação positiva para *C. neoformans* no ovino e *C. gattii* na cabra. É importante considerar que, apesar de não haver transmissão da infecção entre animais e de animais para humanos, os animais infectados podem contribuir para a contaminação ambiental favorecendo a difusão do agente. Além disso, com a comprovação da ocorrência da doença em pequenos ruminantes na Paraíba, evidencia a importância de estudos para caracterização epidemiológica da distribuição do fungo no ambiente.

Palavras-Chave: criptococose; *Cryptococcus*; ruminantes; ovino; caprino.

OVERVIEW

Cryptococcosis is a mycosis caused by yeasts of the genus *Cryptococcus*, affecting the respiratory tract and possibly spreading to the brain, other organs and skin. The infection is mainly acquired by inhalation of fungal propagules in contaminated environments containing dry bird feces, mainly pigeons, decaying wood and hollow trees. The disease occurs in humans and several animal species, being rare in small ruminants. Therefore, this work aimed to report cases of cryptococcosis in sheep and goats in the state of Paraíba. The dissertation was divided into three chapters. Chapter I is a literature review on aspects of cryptococcosis; chapter II reports the first case of disseminated cryptococcosis in sheep; and chapter III reports a case of cutaneous cryptococcosis in a goat. Case 1: Santa Inês sheep, male, four years old, with a history of lameness and increased scrotal volume that, on physical examination, showed apathy, serous nasal secretion and ulcers in the nasal cavities, severe lameness, slight increase in volume in the boletus region, subcutaneous nodules and marked enlargement of the scrotum with nodules in the testicles. Case 2: goat, SRD, female, weighing 26 kg, with chief complaint of foul-smelling liquid diarrhea. On physical examination, he presented apathy, porcelain-colored mucous membranes, presence of ectoparasites and skin lesions on the face. Then there was a productive cough, inspiratory noises and fistulation of the skin lesion. Cytology and culture of samples from both animals were performed. The cytology of both samples showed numerous yeast forms surrounded by a clear halo compatible with *Cryptococcus* spp., yeast colonies with characteristics of *Cryptococcus* spp. Due to the unfavorable prognosis, the producers opted for euthanasia. At necropsy, we observed: case 1 (sheep) – disseminated and accentuated granulomatous lesions affecting the skin and subcutaneous tissue, lymph nodes, nasal cavity, testicles and epididymis, in addition to accentuated granulomatous osteomyelitis in the incisor bones, palate, cribriform plate, bones of the carpal, nasal and frontal. Lesions consisting of large numbers of macrophages, lymphocytes, plasma cells, some neutrophils and rare multinucleated giant cells and numerous yeasts surrounded by a thick capsule; case 2 (goat) - volume increase with discrete serosanguinous secretion in the cutaneous tissue of the face, characterized microscopically as focally extensive necrosis, characterized by mononuclear inflammatory infiltrate, with some encapsulated yeasts. During the necropsy of both animals, samples were collected for fungal culture. In the culture of all samples, yeasts suggestive of *Cryptococcus* spp. were isolated, which were submitted to analysis by the mass spectrophotometry technique (MALDI-TOF) with positive identification for *C. neoformans* in sheep and *C. gattii* in goats. It is important to consider that, although there is no transmission of the infection between animals or from animals to humans, infected animals can contribute to environmental contamination by favoring the spread of the agent. In addition, with the confirmation of the occurrence of the disease in small ruminants in Paraíba, it highlights the importance of studies for the epidemiological characterization of the distribution of the fungus in the environment.

Keywords: cryptococcosis; *Cryptococcus*; ruminants; sheep; goats.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO II

- Figura 1 - Criptococose em ovino. A – Nódulos subcutâneos em região de chanfro (sobre o osso nasal) e fronte (osso frontal). B - Postura anormal, indicando dor na articulação do boleto do membro direito, e aumento de volume do escroto, decorrente de epidídimo-orquite..... 36
- Figura 2 - Radiografias do carneiro. A – Projeção dorsoplantar e B – Projeção médio-lateral da mão direita. Notar a reação lítica e proliferativa nas falanges média e distal do terceiro dedo (osteomielite e artrite crônicas). C – Projeção látero-lateral da cabeça. Notar radiopacidade nos cornetos nasais e na pele do chanfro e fronte indicativos de lesões granulomatosas crônicas, osteólise no ossos nasal e frontal (osteomielite)..... 38
- Figura 3 - Citologia por PAAF de nódulos nos testículos de ovino. A – Leveduras compatíveis com *Cryptococcus* spp., objetiva 40x. B – Leveduras envoltas por um halo claro, compatíveis com *Cryptococcus* spp. objetiva 100x..... 39
- Figura 4 - Colônias mucóides de coloração marrom em em ágar semente de níger, características de *Cryptococcus* spp..... 39
- Figura 5 - Achados de necrópsia de criptococose em carneiro adulto. A – Nódulo no subcutâneo da região medial do membro torácico direito. B – Múltiplos nódulos coalescentes no osso incisivo e mucosa nasal. C – Discreta compressão do parênquima nervoso decorrente de nódulo em osso frontal, com osteólise. D – Testículos e epidídimos com áreas circulares, multifocais a coalescentes amareladas e firmes, com centro necrótico (friável)..... 40
- Figura 6 - Aspectos histopatológicos da criptococose disseminada em ovino adulto. A-E (coloração de hematoxilina e eosina). (A) Granuloma contendo numerosas leveduras extracelulares e intra-histiocíticas, arredondadas, não coradas, circundadas por inflamação, se expande e substitui o tecido conjuntivo submucoso nasal (seta),

X40. (B) Muitos macrófagos e numerosas leveduras medindo 5-15µm (seta) estão presentes na submucosa nasal, X400. (C) Osteomielite do osso frontal (seta) com numerosas leveduras extracelulares e intra-histiocitárias não corantes (asterisco), X100. (D) O linfonodo é difusamente expandido por levedura não tingida, X200. (E) A parede do ducto epididimal é expandida (seta) por numerosas leveduras, X100. (F) Um granuloma testicular mostrando múltiplas leveduras redondas realçadas pela coloração especial de metenamina de prata de Grocott, X400..... 42

CAPÍTULO III

Figura 1 - Criptococose em cabra. Corte histológico de lesão cutânea evidenciando-se leveduras fortemente coradas em azul, evidenciando-se a cápsula espessa (azul Alciano).....53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
bpm	Batimentos por minuto
FeLV	Vírus da Leucemia Felina
FIV	Vírus da Imunodeficiência Felina
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MALDI-TOF	Ionização por Dessorção a Laser Assistida por Matriz com Analisador por Tempo de Voo
MATa	Mating Type A
mrpm	Movimentos respiratórios por minuto
MAT α	Mating Type Alfa
PAAF	Punção Aspirativa por Agulha Fina
PAS	Ácido Periódico de Schiff
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
RAPD DNA	Polimórfico Amplificado Aleatoriamente
RFLP	Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição
SNC	Sistema Nervoso Central
sp	Espécie
spp	Espécies
SRD	Sem Raça Definida
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa

LISTA DE SÍMBOLOS

cm Centímetro

°C Grau Celsius

kg Quilograma

μm Micrômetro

% Porcentagem

SUMÁRIO

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	12
2 CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Histórico.....	15
2.2 Taxonomia	17
2.3 Ecologia e Epidemiologia.....	17
2.4 Agente etiológico.....	19
2.4.1 Cápsula	20
2.4.2 Melanina e Lacase.....	20
2.4.3 Crescimento à 37°C	21
2.4.4 Hidrólise da ureia	21
2.5 Diagnóstico	21
2.6 Tratamento e Controle	23
REFERÊNCIAS	24
3 CAPÍTULO II	32
CRIOCOCOSE DISSEMINADA POR CRYPTOCCUS NEOFORMANS EM OVINO ADULTO.....	32
RESUMO.....	33
ABSTRACT	34
INTRODUÇÃO.....	35
RELATO DE CASO.....	36
DISCUSSÃO.....	43
REFERÊNCIAS	45
4 CAPÍTULO III	48
CRIOCOCOSE CUTÂNEA POR CRYPTOCCUS GATTII EM CAPRINO NA PARAÍBA, BRASIL.....	48
RESUMO.....	49
ABSTRACT	50
INTRODUÇÃO.....	51
RELATO DE CASO.....	52
DISCUSSÃO.....	54
REFERÊNCIAS	56
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60
REFERÊNCIAS.....	61

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Ovinos e caprinos são animais que conseguem se adaptar facilmente em qualquer região e, por esse motivo, a produção dessas espécies tem sido bem explorada por todo o mundo (Quadros, 2018).

No Brasil, com efetivo de 11,9 milhões de caprinos e 20,5 milhões de ovinos (IBGE, 2022), a cadeia produtiva de ovinos e caprinos é uma importante fonte de renda para pequenos produtores rurais, através do aproveitamento da carne, leite e pele (Monteiro; Brisola; Vieira Filho, 2021), com destaque para a região nordeste onde concentra-se 95,2% e 69,9% do total nacional de caprinos e ovinos, respectivamente (IBGE, 2022).

O nordeste brasileiro ocupa, em sua maioria, a região do semiárido, composto por 1.262 municípios dos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte e Sergipe, e algumas cidades do estado de Minas Gerais, que não faz parte da região nordeste, mas estão incluídas na região semiárida (IBGE, 2021). O semiárido brasileiro é caracterizado por apresentar uma significativa escassez hídrica e as chuvas também acontecem com baixa frequência, o que dificulta a sobrevivência de plantas e animais (Rego Filho; Fernandes; Menezes, 2020). No entanto, caprinos e ovinos são animais rústicos, que se adaptam bem a mudanças climáticas e condições adversas (Santana, 2017).

Apesar dessa fácil habituação, alguns fatores influenciam na saúde desses animais, como o meio ambiente, erros de manejo, genética, entre outros, o que pode levar ao acometimento de doenças infecciosas, parasitárias e distúrbios metabólicos (Quadros, 2018). Dentre as doenças infecciosas fúngicas que mais acometem caprinos e ovinos, são descritas as rinites micóticas, causadas por *Pythium insidiosum* e *Conidiobolus lamprauges*, fungos que são encontrados no solo e na água (Riet-Correa; Simões; Azevedo, 2011). Carmo *et al.* (2020) descrevem também a ocorrência de aspergilose e criptococose como doenças fúngicas que podem afetar caprinos e ovinos.

A criptococose é uma doença infecciosa fúngica sistêmica causada por fungos do gênero *Cryptococcus* que pode acometer humanos (Pizani; Santos, 2017), felinos (Guedes *et al.*, 2019), cães, equinos, bovinos, caprinos, ovinos (Carmo *et al.*, 2020), além de animais silvestres como coalas, furões, pássaros e marsupiais e animais marinhos como golfinhos (Chen; Meyer; Sorrell, 2014). A principal via de infecção em

humanos e animais é a inalação de basidiósporos encapsulados presentes no ambiente, em especial, em ambiente contendo matéria vegetal em decomposição, fezes de aves (principalmente pombos), e morcegos (Macêdo *et al.*, 2020; Pizani; Santos, 2017; Silva *et al.*, 2010), também sendo possível a infecção pela contaminação de soluções de continuidade (Silva *et al.*, 2010).

A infecção e doença é mais comum em pacientes que apresentam comprometimento do sistema imune, principalmente os portadores de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Pizani; Santos, 2017). Em animais, a espécie mais comumente acometida é a felina, sendo a criptococose uma das doenças fúngicas mais importantes em gatos (Guedes *et al.*, 2019). Assim como em humanos, nos gatos, a imunossupressão predispõe a infecção e doença, sendo induzida pelo uso de glicocorticoides, quimioterápicos, doenças virais como FIV e FeLV e neoplasias (Canavari *et al.*, 2017). Os sinais clínicos da criptococose em animais incluem alterações respiratórias, neurológicas, oculares e dermatológicas e, em caprinos, ovinos e bovinos é frequente a inflamação da glândula mamária (Baroni *et al.*, 2016; Fadda *et al.*, 2013; Spanamberg *et al.*, 2008; Toscano, 2022).

O gênero *Cryptococcus* faz parte do reino *Fungi*, apresenta duas espécies que causam as manifestações clínicas mais severas da criptococose em animais e humanos (*C. neoformans* e *C. gattii*) e cinco sorotipos (A, B, C, D e AD) (Araújo Júnior, 2014; Nunes, 2013). São fungos leveduriforme, que medem de 2 a 4 µm de diâmetro e produzem enzimas oxidase e protease, sua cápsula apresenta polissacarídeos com propriedade antifagocítica, crescem a 37°C, produzem melanina e apresentam atividade de urease, sendo esses fatores que conferem a virulência destes fungos (Gomes *et al.*, 2010).

O *C. neoformans* pode colonizar o inglúvio de pombos sem causar doença e ser eliminado junto às fezes. As fezes secas de aves, ricas em nitrogênio, funcionam como fonte nutritiva para os fungos no ambiente, os quais podem permanecer por anos nestes ambientes (Menezes *et al.*, 2014). Também é encontrado em materiais contendo restos vegetais em decomposição e em ambientes com fezes de outros passeriformes e de morcegos (Araújo Júnior *et al.*, 2015; Souza *et al.*, 2018; Xavier; Madrid, 2014). O *C. gattii* tem como habitat material vegetal em decomposição, sendo isolado de ocos de árvores e de madeira em decomposição de diversas espécies de árvores em diversos países de clima temperado e tropical (Chen; Meyer; Sorrell, 2014), sendo raramente isolado em fezes de aves (Araújo Júnior *et al.*, 2015).

O diagnóstico de *Cryptococcus* spp. pode ser realizado através de exame direto, cultura e imunodiagnóstico. No exame direto é feita uma preparação citológica, utilizando corantes de Wright e Giemsa, hematoxilina e eosina ou tinta nanquim, onde são visualizados, microscopicamente, leveduras envoltas por uma cápsula podendo ser identificado brotamento. A cultura é realizada com meio ágar-sangue, Sabouraud ou meios seletivos, incubados a 30°C. A presença do fungo é confirmada por meio de atividade da urease, ausência de lactose e assimilação de nitrato. No imunodiagnóstico é identificado o antígeno no soro ou líquido (Pohlman; Chengappa, 2017).

Quando ocorre o diagnóstico de criptococose em animais de produção, é possível que haja o envolvimento de fatores exógenos, ou seja, o fungo pode estar presente no ambiente em excretas de aves, ocos de árvores, resíduos vegetais, solo, sendo assim um importante meio de alerta à saúde pública (Lemos *et al.*, 2007).

Mesmo sendo uma zoonose, a criptococose não é uma doença de notificação compulsória. Associado a isso, os relatos de casos de criptococose em ovinos e caprinos também são poucos, pois é uma infecção rara e esporádica nessas espécies (Bianchi *et al.*, 2018; Carmo *et al.*, 2020; Macêdo *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2010), não tendo sido encontrado nenhum artigo relatando a ocorrência de casos de criptococose em pequenos ruminantes na Paraíba. Portanto, as publicações sobre os casos de ocorrência dessa doença na região podem contribuir para a melhor compreensão da sua ocorrência e importância para os animais de produção.

Sendo assim, este trabalho objetivou relatar dois casos de criptococose em pequenos ruminantes na Paraíba. O capítulo dois relata o primeiro caso de criptococose disseminada em ovino. O terceiro capítulo relata um caso de criptococose cutânea em cabra no estado da Paraíba.

2 CAPÍTULO I - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

A criptococose humana foi descrita pela primeira vez no ano de 1894, pelo isolamento de um fungo, com parede celular espessa, a partir de lesão tibial, sendo nomeado como *Saccharomyces hominis* por Otto Busse e Abrham Buschke (Lima, 2019). No mesmo ano, Francesco Sanfelice, isolou leveduras capsuladas do suco de pêssigo, denominando-a *Saccharomyces neoformans* (Srikanta; Santiago-Tirado; Doering, 2014). Como, essas leveduras não produziam ascósporos, a classificação passou de *Saccharomyces* para *Cryptococcus* que, do grego, significa *krypto* - oculto/secreto e *kokkos* - grão/formato esférico (Oliveira, 2019). Essa reclassificação foi proposta por Jean-Paul Vuillemin em 1901 (Espinell-Ingroff; Kidd, 2015).

Nos anos seguintes foram relatados casos diagnosticados de meningite causadas por *Cryptococcus* em humanos. Dois desses casos foram causados por fungos que levaram o nome de *Torula histolytica*. Só em 1935, após análise da morfologia, patogenicidade e outros fatores, Rhoda Benham propôs que esses agentes, antes chamados de *Saccharomyces*, *Cryptococcus* e *Torula*, fossem agrupados no gênero *Cryptococcus*, a infecção fosse chamada de criptococose e o agente nomeado como *Cryptococcus neoformans* (Lima, 2019).

No ano de 1950, Evans e Kessel verificaram a existência dos sorotipos A, B e C, determinados pelos polissacarídeos que compõem a cápsula. O sorotipo D foi identificado por Wilson, Bennett e Bailey, no ano de 1968. Posteriormente, em 1985, foi descrito o sorotipo híbrido AD de cepas que apresentaram em suas cápsulas os polissacarídeos constituintes dos sorotipos A e D (Elias, 2015).

Em 1955, o pesquisador Chester W. Emmons observou a presença de *Cryptococcus neoformans* em solo contaminado por fezes de aves, principalmente fezes de pombos (Ramalho, 2009).

Já em 1970 foi descoberta, por Vanbreuseghem e Takashio, uma nova variedade, *C. neoformans* var. *gattii*, que foi isolada de um indivíduo com leucemia, onde foram observadas leveduras de morfologia elíptica, diferentes das cepas isoladas até então. Mas somente em 2002 é que o nome “*gattii*” foi definitivamente adotado e a variedade considerada como espécie, devido ao frequente uso dessa denominação e às suas diferenças fenotípicas, genotípicas e epidemiológicas (Chen;

Meyer; Sorrell, 2014). Hoje sabe-se que o *C. neoformans* e o *C. gattii* são as variedades de maior importância, devido ao seu potencial patogênico, causando as formas mais graves da doença em humanos e animais (Colombo *et al.*, 2015).

Em animais, a espécie mais acometida pela criptococose são os felinos domésticos, sendo uma das doenças fúngicas mais importantes nesses animais (García; Blanco, 2000). O primeiro caso de criptococose em gato, descrito no Brasil, ocorreu em 1971 onde o animal apresentou alterações respiratórias e oftálmicas (Campos, 2006; Rodrigues *et al.*, 2020). Em seguida, o primeiro relato de criptococose em cães no Brasil deu-se em 1983, através de diagnóstico *post mortem*, e em 2003 foi relatado diagnóstico *intra vitam* em um cão fêmea, da raça Pastor Alemão, com 2 anos de idade, onde houve envolvimento oftálmico e tegumentar (Larsson *et al.*, 2003).

Em animais de produção, como equinos, bovinos e pequenos ruminantes, a doença ocorre ocasionalmente (Carmo, 2014). O primeiro relato em bovinos ocorreu em 1895, onde foi isolado, em um linfonodo de um bovino, uma levedura semelhante aos fungos *Saccharomyces neoformans* isolados por Sanfelice e Busse (Elias, 2015). Há também o envolvimento de *Cryptococcus* spp. em mastites em vacas, sendo os primeiros relatos de 1952, mas também há relatos de envolvimento do sistema respiratório e sistema nervoso, no qual foram relatados dois casos mais recentes de meningoencefalite em 2011 e 2012 (Baroni *et al.*, 2016; Carmo, 2014).

Em 1902, Frothingham relatou o envolvimento de *Cryptococcus* spp. em equino, onde o fungo foi isolado de uma lesão pulmonar e no qual foi possível comprovar que essa levedura é patogênica para animais e humanos (Elias, 2015).

Em pequenos ruminantes há alguns relatos da ocorrência de criptococose em ovinos causando lesões pulmonares e rinite micótica por *Cryptococcus neoformans* nos anos de 2007 no Rio de Janeiro e 2010 em Pernambuco, respectivamente (Lemos *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2010). Em caprinos há relato de criptococose cutânea devido a contaminação de ferimento cirúrgico com evolução para criptococomas peritoneais (Villarroel; Maggiulli, 2012), e de surtos na Espanha, entre os anos de 1990 e 1994, com envolvimento dos sistemas respiratório e nervoso (Baró *et al.*, 1998) e, no Brasil, desde 2009 encontra-se relatos na literatura envolvendo os pulmões e cérebro (Bianchi *et al.*, 2018; Luvizotto *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2017).

2.2 Taxonomia

O complexo *Cryptococcus neoformans* faz parte do reino Fungi, filo Basidiomycota, classe Tremellomycetes, ordem Tremelalle, família Tremellaceae (Elias, 2015). As espécies de maior importância são chamadas *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* nas formas assexuadas e, nas formas sexuadas são denominadas *Filobasidiella neoformans* e *Filobasidiella bacillispora* (Silva Neto, 2020). Já foram descritas mais de 300 espécies, no entanto, de acordo com classificação proposta recentemente, apenas sete espécies são consideradas capazes de causar a doença em humanos e animais, as quais, excluindo os híbridos e aneuplóides, foram agrupadas nos complexos *C. neoformans* com duas espécies (*C. neoformans*, *C. deneoformans*), e *C. gattii* com cinco espécies (*C. gattii*, *C. bacillisporus*, *C. deuterrogattii*, *C. tetragattii* e *C. decagattii*) (Idnurm; Lin, 2015; Silva, 2020).

Há outras espécies que podem ser encontradas no ambiente e que raramente podem causar infecção em humanos e animais, como *Cryptococcus laurentii*, *C. curvatus* e *C. albidus* (Marsilio; Sousa, 2019).

2.3 Ecologia e Epidemiologia

A criptococose é uma infecção fúngica sistêmica, de caráter oportunista, descrita e conhecida há centenas de anos (Soares, 2015), e zoonótica, pois acomete humanos e diversas espécies de animais domésticos e silvestres (Queiroz *et al.*, 2008). Possui caráter oportunista em razão de acometer indivíduos imunocomprometidos, em humanos principalmente os portadores de HIV, e em animais com doenças virais como FIV e FeLV, neoplasias, bem como indivíduos com o sistema imune afetado pelo uso de glicocorticoides e quimioterápicos (Pizani; Santos, 2017; Toscano, 2022).

A infecção causada por fungos do gênero *Cryptococcus* é também conhecida como torulose, blastomicose europeia, doença de Busse-Buschke, e tem distribuição mundial (Muller; Nishizawa, 2017). Na década de 1980 houve o aumento de casos de HIV e à vista disso a criptococose foi observada com maior cautela, em decorrência de sua manifestação nesses indivíduos imunocomprometidos (Freire, 2011). No entanto, a criptococose também pode ocorrer em indivíduos imunocompetentes

(Soares, 2015), principalmente quando o agente envolvido é o *C. gattii*, em humanos e animais (Chen; Meyer; Sorrell, 2014).

A criptococose pode se manifestar através de doença pulmonar, uma vez que a infecção ocorre pela inalação de propágulos do fungo, podendo atingir o sistema nervoso levando à meningoencefalite (Santos, 2018).

A espécie *Cryptococcus neoformans* pode estar presente em solo contaminado por fezes de aves, principalmente de pombos (Freire, 2011). O pombo-comum (*Columba livia*) é uma ave doméstica existente em todo o território brasileiro, e que vive em áreas públicas, como praças, feiras, lugares onde geralmente há alimento disponível, sendo esses locais um meio que fornece as condições básicas para a sua habituação e reprodução (Guimarães, 2014). O desenvolvimento urbano acentuado, ligado a falta de um planejamento adequado para controle dessa espécie, leva a um desequilíbrio ambiental e, conseqüentemente, à infestação de pombos em áreas públicas das grandes cidades (Torres; D'Aparecida; Haas, 2015).

Sendo assim, a presença dessas aves nestes locais, se tornou um problema de saúde pública, pois contribuem para a contaminação e propagação de patógenos no meio ambiente, através da deposição de suas fezes, associado ao fato de que os pombos são tidos como reservatórios de vários agentes patogênicos, muitos deles causadores de zoonoses. A transmissão para humanos pode ocorrer através da via respiratória ou via oral, quando é aspirado ou ingerido poeira e alimentos que estejam contaminados com fezes de pombos (Silva; Capuano, 2008). As excretas possuem ureia e creatinina e o *Cryptococcus neoformans* as utiliza como fonte de nitrogênio. Nos pombos o fungo age como endosaprófito natural, não causando a doença (Araújo Júnior, 2014). Além de estar presente nas fezes dessas aves, geralmente o *C. neoformans* acomete indivíduos com o sistema imune comprometido (Barboza, 2018).

Já a espécie *Cryptococcus gattii* pode ser encontrada em fontes ambientais, principalmente em madeira em decomposição, ocos de árvores, em especial da espécie *Eucalyptus camaldulensis* e atua como agente primário em indivíduos imunocompetentes (Marsilio; Sousa, 2019). Já foi descrito o isolamento da levedura de outras espécies de árvores como o cabori (*Myroxylon peruiferum*), cacauieiro (*Theobroma cacao*), cássia amarela (*Senna multijuga*), cássia rosa (*Cassia grandis*), figueira asiática (*Ficus microcarpa*), jamelão (*Syzygium jambolana*) e sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides*) (Elias, 2015).

A criptococose causada pela espécie *Cryptococcus neoformans* é predominante nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, associada a casos de AIDS. Por outro lado, a espécie *C. gattii* tem sido relatada causando a infecção em imunocompetentes nas regiões Norte e Nordeste do país (Consenso, 2008; Marsilio; Sousa, 2019).

2.4 Agente etiológico

Os fungos do gênero *Cryptococcus* spp. são unicelulares, leveduriformes, medem de 3 a 8 μm de diâmetro, se reproduzem por brotamento e são portadores de cápsula, sendo esse um dos seus fatores de virulência, isto é, o que determina a patogenicidade deste fungo (Barboza, 2018; Elias, 2015). Esses fungos também podem produzir hifas na sua fase sexuada, esses tipos sexuais ou *mating types* MAT α e MAT β são denominados de *Filobasidiella neoformans* e *Filobasidiella bacillispora*, que correspondem respectivamente aos anamorfos *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* (Freire, 2011).

O *Cryptococcus* spp. pode sobreviver nas fezes de aves por meses, e estando essas fezes secas no solo, os propágulos do fungo, que são leveduras infectantes desidratadas, podem ser inalados, afetando primariamente o sistema respiratório, porém, o fungo pode atingir outros sistemas, através da corrente sanguínea, tendo tropismo pelo sistema nervoso central (Barboza, 2018). O sistema nervoso é rico em adrenalina, noradrenalina e dopamina, que são catecolaminas. Essa atração do *Cryptococcus* spp. pelo SNC pode ser justificada pela habilidade que esses fungos têm em usar essas catecolaminas como substrato para seu crescimento, visto que o fungo produz a enzima fenoloxidase (Freire, 2011).

Existem cinco sorotipos, A, B, C, D e o híbrido AD. Os sorotipos A, D e AD estão relacionados com *Cryptococcus neoformans* e os sorotipos B e C com *Cryptococcus gattii* (Freire, 2011).

Avanços em estudos genotípicos possibilitaram a identificação dos tipos moleculares, através de técnicas moleculares como PCR-*Fingerprinting* e RFLP. Verificaram-se oito tipos moleculares, sendo quatro associados ao complexo *C. neoformans* (VNI, VNII, VNIII e VNIV) e quatro ao complexo *C. gattii* (VGI, VGII, VGIII e VGIV) (Santos *et al.*, 2020; Tapia; Correa, 2014).

O fungo apresenta fatores de virulência que interferem na resposta imune do hospedeiro e que auxiliam sua sobrevivência, são elas a cápsula, a produção de melanina e lacase, crescimento à 37°C, hidrólise da ureia.

2.4.1 Cápsula

A cápsula de *Cryptococcus* spp. é composta por polissacarídeos, predominando a glicuronoxilomanana, que possui potencial negativo gerando uma repulsão eletrostática entre o fungo e o macrófago, com isso sua principal ação é impedir a fagocitose e a ativação do sistema complemento (Freire, 2011). Esses polissacarídeos são os fatores que definem os sorotipos de *Cryptococcus* spp. (Marsilio; Sousa, 2019).

Além disso, a cápsula também impossibilita a destruição da parede fúngica, reduz a liberação de citocinas pró-inflamatórias, inibe a apresentação dos antígenos aos linfócitos T e atua protegendo o fungo no ambiente da desidratação (Burgel, 2015).

2.4.2 Melanina e Lacase

A melanina é um pigmento produzido pelos fungos do gênero *Cryptococcus*, que é capaz de inibir a fagocitose e a resposta imune celular, impedindo a produção da citocina TNF- α (fator de necrose tumoral alfa). Esse pigmento também atua como antioxidante (Freire, 2011).

A produção de melanina é observada quando o fungo é semeado em ágar semente de Níger, este meio de cultura contém compostos difenólicos, no qual as leveduras utilizam esses substratos produzindo a melanina fazendo com que as colônias de *Cryptococcus* spp. cresçam com coloração amarronzada. A lacase é a enzima que catalisa a produção de melanina e é secretada pelos fungos *Cryptococcus* spp. Essa enzima oxida os substratos difenólicos e as catecolaminas encontradas no SNC (Elias, 2015).

2.4.3 Crescimento à 37°C

Os fungos do gênero *Cryptococcus* são leveduras termotolerantes, ou seja, tem a capacidade de crescer a uma temperatura de 37°C, que é a média de temperatura corporal dos hospedeiros, tornando possível o desenvolvimento da infecção. Isso se deve ao fato de que a maioria das cepas possuem o gene calcineurina, que é ativado justamente quando o fungo se encontra em altas temperaturas, sendo esse fator fundamental para adaptação e virulência do fungo (Chow *et al.*, 2017; Rêgo *et al.*, 2018).

2.4.4 Hidrólise da ureia

Os fungos *Cryptococcus* spp. são capazes de produzir a enzima urease, que hidrolisa a ureia, quando cultivado em ágar ureia. Eles possuem o gene URE1, que codifica a síntese da urease. Em estudo realizado por Cox *et al.* (2000), foi possível observar que as cepas que apresentavam o gene URE1 eram mais virulentas. Há também indícios de que a urease tem papel importante na invasão do *Cryptococcus* spp. ao SNC (Lima, 2019).

2.5 Diagnóstico

A criptococose pode ser diagnosticada através de exame direto de secreções como escarro, urina, pus de abscessos, amostras de líquido cefalorraquidiano, aspirados de medula óssea, que são corados com tinta da China, onde será possível observar microscopicamente as leveduras envoltas por um halo que não se cora, sendo esse a cápsula (Silveira *et al.*, 2018).

Cryptococcus spp. pode ser isolado através de cultura fúngica onde será observado o crescimento de colônias brancas mucoides, quando cultivado em ágar Sabourad, ou colônias amarronzadas, quando cultivado em ágar semente de Níger ou meio de cultura que contenha compostos difenólicos. O crescimento pode ser observado após 48 e 72 horas. O ágar semente de Níger é produzido com sementes de *Guizotia abyssinica*, que possui em sua composição compostos fenólicos, os quais são utilizados pelas enzimas fenoxidase produzidas pelos fungos *Cryptococcus* e

consequentemente ocorre a produção de melanina, conferindo uma coloração marrom às colônias fúngicas (Marsilio; Sousa, 2019).

Para confirmar o diagnóstico podem ser realizados testes bioquímicos como o teste da urease, pois os fungos do gênero *Cryptococcus* tem atividade positiva para urease. Quando cultivados em ágar ureia ocorre a hidrólise, alterando o pH do meio, sendo observada por uma coloração rosa, o que indica que o teste foi positivo (Araújo Júnior, 2014). Esses fungos também têm a capacidade de crescer a 37°C, por esse motivo pode ser feita a incubação das culturas em estufa com determinada temperatura para observação do crescimento (Toscano, 2022).

Há meios de cultura para fazer a diferenciação das espécies de *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii*. O ágar cavanina-glicina-azul de bromotimol indica que houve crescimento de *C. gattii* quando a coloração do meio é modificada de amarelo-esverdeado para azul, isso ocorre porque o *C. gatti* é resistente à L-cavanina e utiliza a glicina como fonte de carbono e nitrogênio produzindo amônia e muda o pH do meio (Leal, 2006).

Em alguns casos, determinados exames podem gerar um diagnóstico negativo, quando o *Cryptococcus* spp. é deficiente de cápsula. Os exames citológico e histopatológico têm potencial de serem mais específicos. A citologia pode ser realizada através de LCR, secreções, fragmentos de biópsia, sendo corados pela coloração de Wright, Gram ou tinta da China (Queiroz *et al.*, 2008). As amostras são submetidas ao processamento histológico padrão de inclusão em parafina e posteriormente coradas. A técnica de coloração mais empregada na rotina laboratorial é a de hematoxilina-eosina, utilizada na verificação das reações teciduais, no entanto, não destaca as estruturas fúngicas. A impregnação pela prata ou técnica de Grocott é mais sensível para a visualização dos componentes fúngicos, corando a parede celular de negro sobre um fundo verde. O Mucicarmin de Mayer auxilia na visualização do polissacarídeo da cápsula. E o Fontana-Masson destaca a parede celular quando reage com a melanina (Gazzoni; Pegas; Severo, 2008). Outras técnicas que também evidenciam a cápsula do fungo são a técnica do ácido periódico de Schiff (PAS) e a do azul Alciano (Galiza *et al.*, 2014).

Os meios de diagnóstico moleculares são ferramentas importantes, pois permitem um diagnóstico precoce e possuem alta sensibilidade e especificidade, onde é possível caracterizar linhagens, distinguir cepas e auxiliar em pesquisas sobre a patogênese e virulência dessas leveduras. Os testes moleculares mais utilizados são

PCR, RAPD e PCR associado à RFLP, que permite a diferenciação dos genótipos, variedades e sorotipos (Nunes, 2013).

2.6 Tratamento e Controle

As opções de tratamento da infecção por *Cryptococcus* dependem da gravidade e localização dos sítios de infecção (Allano *et al.*, 2019; McGill *et al.*, 2009; Pennisi *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2017), com menor eficácia terapêutica na criptococose disseminada ou com envolvimento do sistema nervoso central (Pennisi *et al.*, 2013).

O tratamento da criptococose humana e animal é realizado através do uso de antifúngicos sistêmicos como a anfotericina B, cetoconazol, itraconazol, fluconazol e 5-flucitosina, empregados isoladamente ou em associação (Pennisi *et al.*, 2013; Muller; Nishizawa, 2017) e terbinafina se resistente aos azóis (Pennisi *et al.*, 2013), não havendo diferença significativa no resultado do tratamento entre gatos tratados com protocolos contendo anfotericina B e os tratados com monoterapia usando fluconazol ou itraconazol (Pennisi *et al.*, 2013) Em casos em que ocorrem alterações oculares e neurológicas, o fluconazol é mais utilizado. No entanto, quando o animal apresenta sinais neurológicos, o antifúngico de eleição é a 5-flucitosina, visto que ele tem a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (Muller; Nishizawa, 2017).

Em gatos, Pennisi *et al.* (2013) relataram 68% de sucesso no tratamento, sendo que a maioria dos recuperados tinham lesões nasossinusais ou cutâneas únicas, subcutâneas ou intestinais e, os que não se recuperaram apresentavam lesões no sistema nervoso central ou disseminadas, que apresentam baixa resposta ao tratamento (McGill *et al.*, 2009).

Como a criptococose canina tem mais propensão a se disseminar, com maior ocorrência de infecções neurológicas, oculares e disseminadas, há pior prognóstico e baixa resposta terapêutica (McGill *et al.*, 2009).

Em ruminantes a bioatividade de medicamentos orais é usualmente mais variável que em animais monogástricos, sendo preferida a administração parenteral nestes animais (Silva *et al.*, 2017), entretanto, a administração parenteral, principalmente intravenosa em animais de consumo é insustentável no caso de tratamentos longos (Villarrol; Maggiulli, 2012). Uma cabra com criptococose em ferida cutânea foi tratada com fluconazol oral por seis meses, entretanto houve

recorrência após dois anos com apresentação de criptococoma peritoneal e, devido a gravidade do quadro clínico, a eutanásia humanitária foi realizada (Villaruel; Maggiulli, 2012).

Em cavalos, analisou-se o tratamento de 16 cavalos, dos quais apenas dois tiveram sucesso no tratamento e os demais foram eutanasiados devido à falta de resposta ao tratamento ou por razões financeiras (Mcgill *et al.*, 2009).

Em síntese, o tratamento pode levar de semanas a meses, podendo ter sucesso ou ainda recidivas. Por isso deve ser levado em consideração o grau de infecção, o estado imunológico do animal e os efeitos deletérios dos fármacos (Herculano *et al.*, 2020; Pennisi *et al.*, 2013), sendo recomendado manter o tratamento até 2 – 4 meses após a resolução clínica dos sinais, podendo se estender por até 24 meses de duração (Pennisi *et al.*, 2013).

REFERÊNCIAS

ALLANO, M.; GRIMES, C.; BOIVIN, R.; SMITH, G.; DUMARESQ, J.; LECLERE, M. *Cryptococcus gattii* pneumonia in an adult horse which had travelled in an endemic area. **Can Vet J.**, v. 60, n. 12, 2019, p.1295-1300.

ARAÚJO JÚNIOR, E. C. ***Cryptococcus*: Isolamento Ambiental e Caracterização Bioquímica**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/127992/000849974.pdf;jsessionid=62B917FF2E94827EA40BAAE30C097BD8?sequence=1>>

BARBOZA, J. F. **PREVALÊNCIA DE *Cryptococcus neoformans* EM AMOSTRAS DE FEZES DE POMBOS (*Columba livia*) PRESENTES NA PRAÇA RODOLFO FERNANDES NA CIDADE DE MOSSORÓ/RN**. 2018. Monografia (Bacharelado em Biomedicina) - Faculdade Nova Esperança de Mossoró, Mossoró, 2018. Disponível em: <<http://www.sistemasfacenern.com.br/repositorio/admin/uploads/arquivos/0b6871acfcc80c9e50b13bcaa2ac44b3.pdf>>

BARÓ, T.; TORRES-RODRÍGUEZ, J. M.; MENDOZA, M. H.; MORERA, Y.; ALÍA, C. First identification of autochthonous *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* isolated from goats with predominantly severe pulmonary disease in Spain. **Journal of clinical microbiology**, v.36, n,2, 1998. p.458–461. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/JCM.36.2.458-461.1998>>

BARONI, F. A.; ABREU, D. P. B.; LIMA, D. M.; CAMPOS, S. G.; PAULA, C. R.; BOTTEON, R. C. C. M. Complexo *Cryptococcus humicola* isolado no pré e no pós-tratamento de mastite em vacas. **Rev. Bras. Med. Vet**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 2, 2016. Disponível em: <<https://rbmv.org/BJVM/article/download/164/103/379>>

BIANCHI, R. M.; CECCO, B. S.; SCHWERTZ, C. I.; PANZIERA, W.; ANDRADE, C. P.; SPANAMBERG, A.; RAVAZZOLO, A. P.; FERREIRO, L.; DRIEMEIER, D. Pneumonia by *Cryptococcus neoformans* in a goat in the Southern region of Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 10, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180372>>

BURGEL, P. H. M. **Modulação do inflamassoma por componentes de cápsula secretados pelo *Cryptococcus neoformans***. 2015. Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília, 2015. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/bitstream/10482/18230/1/2015_PedroHenriqueMirandaBurgel.pdf>

CAMPOS, F. L. **BIOTIPAGEM, SOROGRUPAGEM E PRODUÇÃO DE PROTEASE E FOSFOLIPASE POR *Cryptococcus neoformans* ISOLADOS DE CÃES E GATOS NOS MUNICÍPIOS DE RIO DE JANEIRO-RJ E SÃO PAULO-SP**. 2006. Tese (Magister Scientiae em Microbiologia Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2006. Disponível em: <<https://tede.ufrj.br/jspui/handle/tede/865>>

CARMO, P. M. S. **DOENÇAS FÚNGICAS E PITIOSE EM RUMINANTES**. 2014. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2014. Disponível em: <<http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/25368>>

CHEN, S. C. A.; MEYER, W.; SORRELL, T. C. *Cryptococcus gattii* Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 4, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/CMR.00126-13>>

CHOW, E. W. L.; CLANCEY, S. A.; BILLMYRE, R. B.; AVERETTE, A. F.; GRANER, J. A.; MIECZKOWSKI, P.; CARDENAS, M. E.; HEITMAN, J. Elucidation of the calcineurin-Crz1 stress response transcriptional network in the human fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. **Plos Genetics**, v. 13, n. 4, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006667>>

COLOMBO, G.; TÁPARO, C. V.; ARAÚJO JÚNIOR, E. C.; MAKATU, M. Y.; SANTOS, F. S.; MARINHO, M. Caracterização bioquímica e molecular de *Cryptococcus* spp. isolados de excretas ambientais de pombos (*Columba livia domestica*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo

Horizonte, v. 67, n. 6, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-7753>>

CONSENSO. Consenso em Criptococose - 2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 5, 2008. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/K7mvNM3kj3Mnymt5FTqBkRp/?format=pdf&lang=pt>>

COX, G. M.; MUKHERJEE, J.; COLE, G. T.; CASADEVALL, A.; PERFECT, J. R. Urease as a Virulence Factor in Experimental Cryptococcosis. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 2, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128%2Fiai.68.2.443-448.2000>>

ELIAS, M. S. **Avaliação da melanina como fator de proteção para preservação de *Cryptococcus neoformans* na Coleção de Fungos Patogênicos INI/Fiocruz**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/25123/2/monica_elias_ini_mest_2015.pdf>

ESPINEL-INGROFF, A.; KIDD, S. E. Current trends in the prevalence of *Cryptococcus gattii* in the United States and Canada. **Infect Drug Resist**, n. 2, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.2147/IDR.S57686>>

FREIRE, A. K. L. **CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE AGENTES CAUSADORES DE CRIPTOCOCOSE ISOLADOS DE PACIENTES ATENDIDOS EM UMA UNIDADE TERCIÁRIA DE SAÚDE DO ESTADO DO AMAZONAS**. 2011. Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais e Infecciosas) - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2011. Disponível em: <<https://pos.uea.edu.br/data/area/dissertacao/download/15-2.pdf>>

GALIZA, G. J. N.; SILVA, T. M.; CAPRIOLI, R. A.; TOCHETTO, C.; ROSA, F. B.; FIGHERA, R. A.; KOMMERS, G. D. Características histomorfológicas e histoquímicas determinantes no diagnóstico da criptococose em animais de companhia. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n. 34, v. 3, 2014. Disponível em: <http://pvb.com.br/portal/download_artigo/MTYxOXwyMDIzMDgyMDE2NTI0Nw==>

GARCÍA, M. E.; BLANCO, J. L. Principales enfermedades fúngicas que afectan a los animales domésticos. **Revista Iberoamericana de Micología**, n. 17, 2000. Disponível em: <<http://www.reviberoammicol.com/2000-17/S02S07.pdf>>

GAZZONI, A. F.; PEGAS, K. L.; SEVERO, L. C. Técnicas histopatológicas no diagnóstico de criptococose por *Cryptococcus* deficiente de cápsula: relato de caso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 1, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0037-86822008000100015>>

GUIMARÃES, M. B. Columbiformes (Pombos, Rolinhas e Gouras). In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de Animais Selvagens**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. cap. 27.

HERCULANO, L. F. S.; GALINDO, V. R.; CAVALCANTE NETO, T. S.; SANTOS, L. F. L. Criptococose cutânea canina: relato de caso. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 14, n. 4, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.26605/medvet-v14n4-3939>>

IDNURM, A.; LIN, X. Rising to the challenge of multiple *Cryptococcus* species and the diseases they cause. **Fungal Genetics and Biology**, v. 78, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.05.002>>

LARSSON, C. E.; OTSUKA, M.; MICHALANY, N. S.; BARROS, P. S. M.; GAMBALE, W.; SAFATLE, A. M. V. Criptococose canina: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.55, n.5, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-09352003000500004>>

LEAL, A. L. **Diferenciação das espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* utilizando a metodologia de PCR multiplex e determinação do perfil epidemiológico de pacientes com meningite criptocócica**. 2006. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/7417/000543884.pdf>>

LEMO, L. S.; SANTOS, A. S. O.; VIEIRA-DA-MOTA, O.; TEXEIRA, G. N.; CARVALHO, E. C. Q. Pulmonary cryptococcosis in slaughtered sheep: Anatomopathology and culture. **Veterinary Microbiology**, Elsevier, v. 125, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.11.028>>

LIMA, H. M. T. ***Cryptococcus gattii* COMO AGENTE ETIOLÓGICO DAS INFECÇÕES HUMANAS**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Vigilância Laboratorial em Saúde Pública) - Instituto Adolfo Lutz, Ribeirão Preto, 2019. Disponível em: <<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/08/1010332/tcc-ial-final-hugo-cryptococcus-gattii.pdf>>

LUVIZOTTO, M. C. R.; CARREIRA, V. S.; FERRARI, H. F.; RIBEIRO, D.; VALLIM, M. A.; AZEVEDO, V.; CARDOSO, T. C. Brain and lung cryptococcoma and

concurrent *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in a goat: a case report. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1678-91992009000300015>>

MARSILIO, J. C.; SOUSA, J. Y. **Prevalência de *Cryptococcus neoformans* e *gattii* em fontes ambientais da comunidade em Brasília, Distrito Federal**. 2019. Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica - UniCEUB, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.5102/pic.n1.2018.6399>>

MCGILL, S.; MALIK, R.; SAUL, N.; BEETSON, S.; SECOMBE, C.; ROBERTSON, I.; IRWIN, P. Cryptococcosis in domestic animals in Western Australia: a retrospective study from 1995–2006. **Medical Mycology**, v.47, n.6, 2009, p.625–639. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/13693780802512519>>

MULLER, M.; NISHIZAWA, M. A criptococose e sua importância na Medicina Veterinária. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia CRMV-SP**, v. 15, n. 1, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.36440/recmvz.v15i1.36761>>

NUNES, T. J. C. **Identificação Molecular de Sorotipos e Determinação de *Mating Type* de Isolados Clínicos de *Cryptococcus* spp.** 2013. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/16454/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o_ICS_%20Talita%20de%20Jesus%20Caldas%20Nunes.pdf>

OLIVEIRA, J. M. A. **SUSCEPTIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS DOS AGENTES DA CRIPTOCOCOSE ISOLADOS DE EXCRETAS DE POMBOS E POEIRA DO SOLO NAS PROXIMIDADES DE ESTABELECIMENTOS DE SAÚDE NA CIDADE DE BOA VISTA, RORAIMA**. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2019. Disponível em: <<https://antigo.ufrb.br/procisa/banco-de-dissertacoes/category/90-dissertacoes-turma-2017?download=1202:susceptibilidade-a-antifungicos-dos-agentes-da-criptococose-isolados-de-excretas-de-pombos-e-poeira-do-solo-nas-proximidades-de-estabelecimentos-de-saude-na-cidade-de-boavista-roraima-joao-marcelo-alves-de-oliveira>>

OLIVEIRA, L. I.; PRADO, J. S.; CUNHA, B. M.; FRANÇA, T. N.; ROCHA, L. F. O.; CARROCINO, R. L.; BRITO, M. F. Criptococose pulmonar associada à infecção sistêmica por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em cabra (*Capra hircus*). **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000084>>

PENNISI, M.G.; HARTMANN, K.; LLORET, A.; FERRER, L. Cryptococcosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **J Feline Med Surg.**, v.15, n.7, p.611-8, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1098612X13489224>>

PIZANI, A. T.; SANTOS, M. O. Criptococose em pacientes HIV positivos: revisão sistemática da literatura. **Revista Saúde UniToledo**, Araçatuba, v. 1, n. 1, 2017. Disponível em: <<http://www.ojs.toledo.br/index.php/saude/article/view/2439>>

QUEIROZ, J. P. A. F.; SOUZA, F. D. N.; LAGE, R. A.; IZABEL, M. A.; SANTOS, A. G. Criptococose - uma revisão bibliográfica. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 2, n. 2, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.21708/avb.2008.2.2.699>>

RAMALHO, R. F. **Caracterização morfológica e fenotípica de leveduras do gênero *Cryptococcus* com ênfase na pesquisa de *Cryptococcus neoformans* isoladas de amostras de água de mar e areia de três ambientes costeiros do estado de São Paulo: Canal de São Sebastião, Baixada Santista e Ubatuba.** 2009. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2009. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/120699>>

RÊGO, M. S.; FONTES, R. E. R.; NASCIMENTO, W. S.; SILVA, H. M. ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA DOS PRINCIPAIS ASPECTOS DA CRIPTOCOCOSE. **Anais dos Cursos de Pós-Graduação Lato Sensu UniEVANGÉLICA**, v. 2, n. 1, 2018. Disponível em: <<http://anais.unievangelica.edu.br/index.php/latosensu/article/view/2066/629>>

RODRIGUES, T. O.; GODOY, J. R.; MALANDRIM, P.; SOSSAI, V.; SOUZA, M. T. Criptococose em felino: relato de caso. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v.18, n.3, 2020. Disponível em: <<https://www.revistamvez-crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/download/38105/42707/>>

SANTOS, F. B. **Estudo Ambiental, Caracterização Molecular e Estratégia de Vigilância dos Agentes da Criptococose na Microrregião do Rio Negro no Estado do Amazonas.** 2018. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/34523>>

SANTOS, J.; XAVIER, M. A. S.; CARDOSO, L.; NOBRE, S. A. M.; BACCHI, R. R.; CANGUSSU, C. H. C.; ALMEIDA, A. C.; LEITE, L. N.; BARRETO, N. A. P.; XAVIER, A. R. E. O. Identification and molecular analysis of yeasts found in domestic pigeon droppings in Montes Claros, MG, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 19, n. 1., 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.4238/gmr18521>>

SILVA, E. C.; GUERRA, J. M.; TORRES, L. N.; LACERDA, A. M. D.; GOMES, R. G.; RODRIGUES, D. M.; RÉSSIO, R. A.; MELVILLE, P. A.; MARTIN, C. C.; BENESI, F. J.; SÁ, L. R. M.; COGLIATI, B. *Cryptococcus gattii* molecular type VGII infection associated with lung disease in a goat. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 41, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12917-017-0950-6>>

SILVA, F. A. **GENÉTICA POPULACIONAL E EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE ISOLADOS BRASILEIROS CLÍNICOS E AMBIENTAIS DE *Cryptococcus neoformans***. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/49274/000247675.pdf?sequence=2&isAllowed=y>>

SILVA, J. O.; CAPUANO, D. M. Ocorrência de *Cryptococcus* spp e de parasitas de interesse em saúde pública, nas excretas de pombos na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, Taubaté, v. 67, n. 2, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.53393/rial.2008.v67.32781>>

SILVA, S. T. G.; SOUZA, J. C. A.; MENDONÇA, C. L.; IZABEL, M. A.; DANTAS, A. F.; PORTELA, R.; RIET-CORREA, F.; AFONSO, J. A. B. Nasal cryptococcosis in a sheep in Brazilian Semi-Arid. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 3, n. 2, 2010. Disponível em: <https://bjvp.org.br/wp-content/uploads/2015/07/DOWNLOAD-FULL-ARTICLE-24-20881_2010_11_3_34_13.pdf>

SILVA NETO, B. R. **Pesquisa científica e tecnológica em microbiologia 3**. Ponta Grossa: Atena, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.22533/at.ed.435200107>>

SILVEIRA, M. B.; MOURA, A. M.; SOUSA, I. C.; REZENDE, H. H. A. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE CRIPTOCOCOSE EM INDIVÍDUOS IMUNODEPRIMIDOS. **Saúde & Ciência em Ação**, v. 4, n. 1, 2018. Disponível em: <<https://revistas.unifan.edu.br/index.php/RevistaCS/article/download/400/317>>

SRIKANTA, D.; SANTIAGO-TIRADO, F. H.; DOERING, T. L. *Cryptococcus neoformans*: Historical curiosity to modern pathogen. **Yeast Primer**, v. 31, n. 2, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/yea.2997>>

SOARES, E. A. **Mortalidade por criptococose no Brasil (2000 a 2012)**. 2015. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, 2015. Disponível em: <<https://bvssp.icict.fiocruz.br/lildbi/docsonline/get.php?id=4525>>

TAPIA, C.; CORREA, N. Género *Cryptococcus*. **Revista Chilena de Infectología**, v. 31, n. 6, 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182014000600012>>

TORRES, A. C. D.; D'APARECIDA, N. S.; HAAS, D. J. Principais zoonoses víricas, fúngicas e parasitárias de aves domésticas e silvestres. **Veterinária em Foco**, Canoas, v. 11, n. 1, 2015. Disponível em: <<http://www.periodicos.ulbra.br/index.php/veterinaria/article/view/2101>>

TOSCANO, M. F. **Estudo retrospectivo e espacial de diagnósticos anatomopatológicos da criptococose canina e felina em municípios do Estado de São Paulo**. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba, 2022. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/216052>>

VILLARROELL, A.; MAGGIULLI, T.R. Rare *Cryptococcus gattii* infection in an immunocompetent dairy goat following a cesarean section. **Medical mycology case reports**, v.1, n.1, p.91-94, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mmcr.2012.09.005>>

3 CAPÍTULO II

CRÍPTOCOCOSE DISSEMINADA POR CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS EM OVINO ADULTO

CRIPTOCOCOSE DISSEMINADA POR *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* EM OVINO ADULTO

RESUMO

A criptococose é uma doença fúngica, sistêmica causada por fungos do gênero *Cryptococcus*, sendo as espécies *C. neoformans* e *C. gattii* com importância patogênica para animais (como caninos, felinos, equinos e ruminantes) e humanos. O *C. neoformans* acomete comumente indivíduos imunodeprimidos, enquanto o *C. gattii* pode acometer indivíduos imunocompetentes. São escassos os relatos de criptococose em pequenos ruminantes, nos quais a doença se manifesta com sinais respiratórios e neurológicos. Sendo assim, objetivou-se relatar o primeiro caso de criptococose disseminada em ovino adulto. Foi atendido um reprodutor ovino de quatro anos de idade, da raça Santa Inês oriundo do município de Lagoa Seca, estado da Paraíba, Brasil. Na avaliação inicial o animal pesava 59 kg de massa corporal, com escore corporal 3, apresentava claudicação do membro torácico direito com aumento de volume do boleto, testículos e epidídimos aumentados e consistência firme e aumento de volume no chanfro, além de pequenos aumentos de volume nodulares em diversas regiões da pele. Na citologia observou-se leveduras arredondadas rodeadas por espessa cápsula, compatíveis com *Cryptococcus* spp. O material foi semeado em meio ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e ágar semente de Níger incubadas a 30°C, evidenciando-se crescimento de colônias mucosas de coloração marrom no ágar semente de Níger, características de *Cryptococcus* spp., sendo posteriormente identificadas como *C. neoformans* no MALDI-TOF. Em nenhuma das quatro amostras de fezes de pardais (*Passer domesticus*) colhidas nos apriscos e de casas de árvores dos piquetes, houve crescimento de colônias sugestivas de *Cryptococcus*. Devido à gravidade das lesões e prognóstico desfavorável, o tutor optou pela eutanásia, obtendo-se como conclusão diagnóstica: dermatite granulomatosa disseminada e acentuada, afetando linfonodos, cavidade nasal, testículos e epidídimos e osteomielite granulomatosa e acentuada na placa cribriforme, carpos, osso nasal e frontal. Em todas as lesões com presença de leveduras de *Cryptococcus neoformans*, constituindo o primeiro caso de criptococose disseminada em ovino.

Palavras-Chave: criptococose atípica; osteomielite, ovinos; zoonose.

CRYPTOCOCCOSE DISSEMINATED BY *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* IN ADULT SHEEP

ABSTRACT

Cryptococcosis is a systemic fungal disease caused by fungi of the genus *Cryptococcus*, with the species *C. neoformans* and *C. gattii* of pathogenic importance for animals (such as dogs, cats, horses and ruminants) and humans. *C. neoformans* commonly affects immunosuppressed individuals, while *C. gattii* can affect immunocompetent individuals. There are few reports of cryptococcosis in small ruminants, in which the disease manifests itself with respiratory and neurological signs. Therefore, the objective was to report the first case of disseminated cryptococcosis in an adult sheep. A four-year-old Santa Inês sheep breeder from the municipality of Lagoa Seca, state of Paraíba, Brazil, was assisted. In the initial evaluation, the animal weighed 59 kg of body mass, with a body score of 3, presented lameness of the right forelimb with increased volume of the fetlock, enlarged testicles and epididymis and firm consistency and increased volume in the chamfer, in addition to small increases in volume nodules in different regions of the skin. Cytology showed rounded yeasts surrounded by a thick capsule, compatible with *Cryptococcus* spp. The material was sown on Sabouraud dextrose agar with chloramphenicol and Niger seed agar incubated at 30°C, showing the growth of brown mucous colonies on Niger seed agar, characteristics of *Cryptococcus* spp., later identified as *C. neoformans* in the MALDI-TOF. None of the four sparrow (*Passer domesticus*) feces samples collected in the paddocks and tree houses in the paddocks showed growth of colonies suggestive of *Cryptococcus*. Due to the severity of the lesions and unfavorable prognosis, the tutor opted for euthanasia, obtaining as a diagnostic conclusion: disseminated and severe granulomatous dermatitis, affecting lymph nodes, nasal cavity, testicles and epididymis and granulomatous and severe osteomyelitis in the cribriform plate, carpus, nasal bone and frontal. In all lesions with the presence of *Cryptococcus neoformans* yeasts, constituting the first case of disseminated cryptococcosis in sheep.

Keywords: atypical cryptococcosis; osteomyelitis; sheep; zoonosis.

INTRODUÇÃO

A criptococose é uma infecção fúngica, zoonótica, causada por fungos leveduriformes do gênero *Cryptococcus*, cujas espécies de importância médica são agrupadas em dois complexos, *C. neoformans* e *C. gattii*, divididas em cinco sorotipos, A, B, C, D e AD (Colombo *et al.*, 2015) e vários tipos moleculares (Pennisi *et al.*, 2013). Podem permanecer viáveis por anos no ambiente, principalmente os ricos em fezes de aves, especialmente de pombos (*Columba livia*), mais comum na espécie *C. neoformans*, enquanto o *C. gattii* é associado a cascas e ocos de árvores e madeiras em decomposição, entretanto o *C. neoformans* pode ser encontrado também nestes materiais (Araújo Júnior *et al.*, 2015; Refai; El-Hariri; Alarousy, 2017).

A infecção por *Cryptococcus* apresenta caráter oportunista, sendo diagnosticada geralmente em pacientes imunodeprimidos, em humanos portadores do vírus HIV e neoplasias, animais acometidos por FIV, FeLV, neoplasias e pela utilização de corticoides e quimioterápicos (Pizani; Santos, 2017). A criptococose pode se manifestar por doença do trato respiratório, uma vez que a infecção ocorre pela inalação de propágulos do fungo, podendo se disseminar da cavidade nasal para tecidos vizinhos, para o cérebro, outros órgãos e pele (Mcgill *et al.*, 2009; Refai; El-Hariri; Alarousy, 2017).

Nos animais a criptococose é mais incidente em gatos, sendo a micose sistêmica que mais acomete esses animais (Pennisi *et al.*, 2013). Entretanto, a infecção pode ocorrer em várias espécies animais, incluindo equinos, bovinos, ovinos, caprinos, aves, répteis (Refai; El-Hariri; Alarousy, 2017; Sykes; Malik, 2015). Em ruminantes e equinos a criptococose apresenta baixa frequência, ocorrendo em casos esporádicos ou surtos com poucos casos (Lemos *et al.*, 2007; McGill *et al.*, 2009; Refai; El-Hariri; Alarousy, 2017).

Há poucos relatos de casos de criptococose em pequenos ruminantes no Brasil (Carmo *et al.*, 2020; Macêdo *et al.*, 2020). Nessas espécies, é descrito o envolvimento dos sistemas respiratório decorrente da inalação de propágulos do fungo, assim como o tropismo do patógeno pelo sistema nervoso (Silva *et al.*, 2010; Macêdo *et al.*, 2020; Lemos *et al.*, 2007).

Este trabalho objetiva relatar o primeiro caso de criptococose disseminada por *Cryptococcus neoformans* em ovino adulto.

RELATO DE CASO

Um ovino da raça Santa Inês, macho, quatro anos de idade, foi atendido com histórico de claudicação do membro torácico direito há quatro meses, aumento de volume do escroto e emagrecimento. O animal, procedente do município de Lagoa Seca, estado da Paraíba, era criado em sistema semi-intensivo, em um rebanho de 36 ovinos, sem histórico prévio de doença semelhante.

O exame clínico geral foi realizado conforme metodologia descrita por Diffay *et al.* (2004). O animal apresentava 59 kg de massa corporal e escore corporal 3/5. Estava apático, marcha alterada com claudicação grau IV do membro torácico direito, nódulos subcutâneos e leve aumento de volume na região dos boletos direito e esquerdo. Foi constatada desidratação leve, mucosas congestas, secreção nasal serosa e úlceras nas cavidades nasais. Havia nódulos nas regiões do chanfro e frontal (Figura 1A) e aumento de volume dos testículos, com o escroto medindo 30 cm de comprimento. À palpação, os testículos eram firmes, com nodulações (Figura 1B). Apresentava ainda taquicardia (180 bpm), taquipnéia (108 mrpm) e temperatura retal levemente aumentada (40,3°C). O animal era vacinado contra clostridioses e era vermifugado.

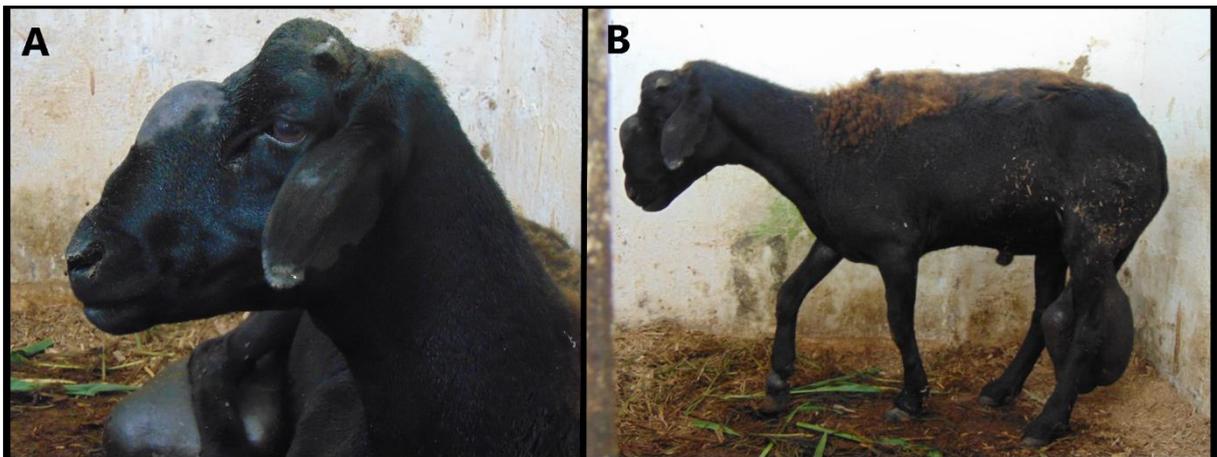


Figura 1 - Criptococose em ovino. A – Nódulos subcutâneos em região de chanfro (sobre o osso nasal) e frente (osso frontal). B – Postura anormal, indicando dor na articulação do boleto do membro torácico direito, e aumento de volume do escroto, decorrente de epidídimo-orquite.

O carneiro permaneceu sete dias internado e, durante esse período, foram realizados exames complementares para confirmação do diagnóstico. Foram realizados, hemograma, determinação do fibrinogênio, proteínas totais, parasitológico

de fezes, ultrassonografia, radiografia, citologia por punção aspirativa com agulha fina (PAAF), culturas bacteriana e fúngica.

As alterações hematológicas foram neutrofilia (valor relativo 87% e absoluto $6,264 \times 10^9/L$; valores de referência 10 – 50% e $0,7 – 6,0 \times 10^9/L$, respectivamente) e linfopenia (valor relativo 17% e absoluto $1.224 \times 10^9/L$; referência 40 – 75% e $2,0 – 9,0 \times 10^9/L$, respectivamente), o que indica um processo inflamatório crônico, hiperproteinemia (94 g/L; valor de referência 60 – 75 g/L), leve aumento no teor de fibrinogênio (6 g/L; valor de referência 1 – 5 g/L). No parasitológico de fezes foi constatado endoparasitismo por nematóides da superfamília *Strongyloidea*.

À ultrassonografia testicular observou-se perda de definição do parênquima testicular bilateral com aumento excessivo de tamanho com ecotextura densa, presença de múltiplas áreas anecóicas e de uma área circunscrita com conteúdo hipocóico em ambos os testículos, achados sugestivos de processo infeccioso crônico e grave.

À radiografia do membro torácico direito observa-se reação periostal acentuada das falanges média e distal do terceiro dedo com invasão dos espaços articulares interfalangianos com aumento de volume e radiopacidade dos tecidos moles adjacentes, sugerindo osteomielite e artrite crônica (Figura 2A-B). A radiografia da cabeça observou-se aumento da radiopacidade do seio nasal, aumento de volume com radiopacidade de tecidos moles na região dorsal ao osso nasal, espessamento focal do osso nasal com diminuição da radiopacidade e discreta reação periostal (lise), aumento de volume com radiopacidade em tecido mole na região frontal e discreta diminuição da radiopacidade do osso frontal e discreta reação periostal (lise) com discreto aumento de radiopacidade do seio frontal, sugestivo de lesão granulomatosa (Figura 2C).



Figura 2 - Radiografias do carneiro: A – projeção dorsoplantar e B – projeção médio-lateral da mão direita. Notar a reação lítica e proliferativa nas falanges média e distal do terceiro dedo (osteomielite e artrite crônicas); C – projeção látero-lateral da cabeça. Notar radiopacidade nos cornetos nasais e na pele do chanfro e fronte indicativos de lesões granulomatosas crônicas, osteólise nos ossos nasal e frontal (osteomielite).

No exame citológico, feito de *swab* das narinas e PAAF de nódulos dos testículos, guiados por ultrassom, foi possível observar, em todas as lâminas, inúmeras formas leveduriformes envoltas por halo claro compatíveis com *Cryptococcus* spp. (Figura 3). Na cultura fúngica, realizada de *swab* da cavidade nasal e aspirado de lesão testicular, houve crescimento de colônias características de *Cryptococcus* spp. em ágar Sabouraud com cloranfenicol e ágar semente de Níger (Figura 4), confirmando o diagnóstico de criptococose. Após confirmação do diagnóstico e, devido à gravidade da doença e o prognóstico desfavorável, o animal foi submetido à eutanásia.

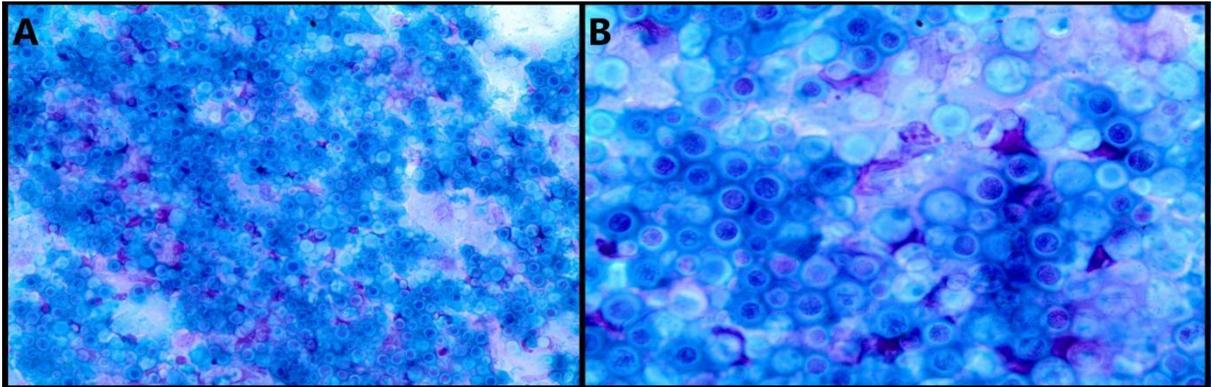


Figura 3 - Citologia por PAAF de nódulos nos testículos de ovino. A - Leveduras compatíveis com *Cryptococcus* spp., objetiva 40x. B - Leveduras envoltas por um halo claro, compatíveis com *Cryptococcus* spp. objetiva 100x.



Figura 4 - Colônias mucóides de coloração marrom em ágar semente de Níger, características de *Cryptococcus* spp.

À necropsia verificou-se nódulos no subcutâneo das regiões mediais de membro torácico e membro pélvico, acima da articulação cárpica e na articulação társica, apresentando superfície esbranquiçada, por vezes avermelhada e fluído líquido gelatinoso (Figura 5A). Havia também nódulos na região do osso incisivo. Na mucosa das conchas nasais observou-se nodulações firmes, amareladas e com superfície irregular. Na placa cribiforme e córtex frontal havia área de discreta compressão do parênquima nervoso e discreta secreção viscosa (Figura 5B-C), porém sem infiltração da massa encefálica. Os linfonodos ilíacos estavam aumentados de volume e, ao corte, exibiam áreas avermelhadas entremeadas por áreas esbranquiçadas. Os testículos apresentavam aumento de volume difuso e acentuado. Ao corte, ambos apresentavam áreas circulares, multifocais a coalescentes, amareladas e firmes, por vezes, com o centro friável e mucoso. Os epidídimos também apresentavam lesões com aspecto semelhante ao observado no

parênquima testicular (epidídimo-orquite), porém mais acentuadas no epidídimo direito; com uma área circular amarelada que rangia ao corte, indicando necrose e mineralização (Figura 5D).

Fragmentos de todos os órgãos internos, osso frontal, incisivo e do boleto direito, encéfalo e pele foram fixados em formol tamponado 10%, processados, com técnica de rotina convencional, incluídos em parafina, cortados em 4 μ m, corados com hematoxilina e eosina. Os tecidos foram ainda corados pelas técnicas histoquímicas do ácido periódico de Schiff (PAS), azul de Alciano (AA) e metenamina de prata de Grocott Gomori (ou GMS).

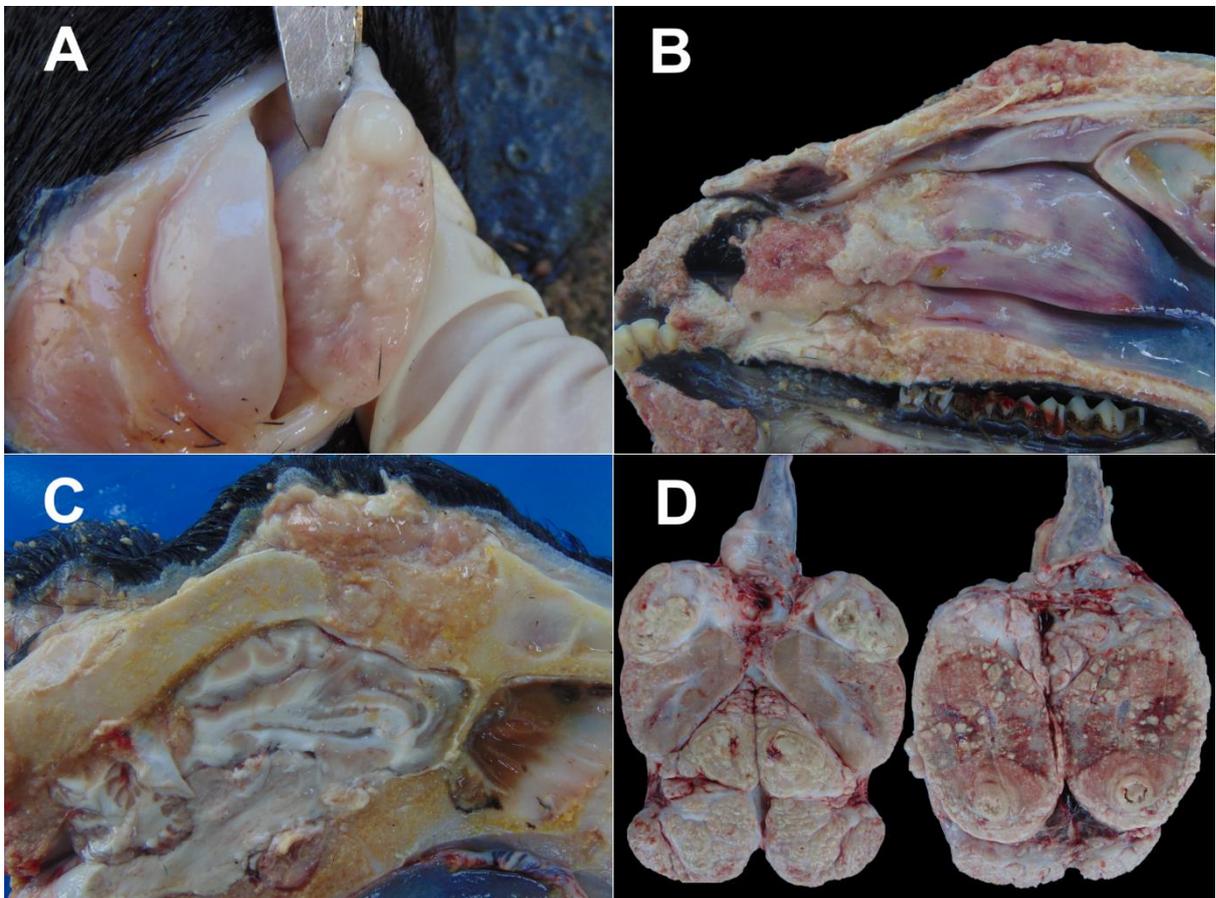


Figura 5 - Achados de necrópsia de criptococose em carneiro adulto. A - Nódulo no subcutâneo da região medial do membro torácico direito. B – Múltiplos nódulos coalescentes no osso incisivo e mucosa nasal. C - Discreta compressão do parênquima nervoso decorrente de nódulo em osso frontal, com osteólise. D - Testículos e epidídimos com áreas circulares, multifocais a coalescentes amareladas e firmes, com centro necrótico (friável).

Microscopicamente, evidenciou-se na mucosa nasal (Figura 6A-B), tecido subcutâneo, osso incisivo, palato, ossos do boleto, osso frontal (Figura 6C), linfonodos (Figura 6D), testículos e epidídimos (Figura 6E), inflamação granulomatosa, multifocal a coalescente, com centro necrótico. Essas lesões eram constituídas por grande

quantidade de macrófagos epitelioides, linfócitos, plasmócitos, alguns neutrófilos nas áreas necróticas, além de raras células gigantes multinucleadas. Em meio à lesão havia inúmeras estruturas leveduriformes redondas de 5-15µm de diâmetro com paredes finas (1µm) e eosinofílicas, revestidas por halo pálido, não corado, de até 10µm de espessura (cápsula e artefato de retração), livres ou no citoplasma de macrófagos. Ocasionalmente, essas leveduras apresentavam brotamento de base estreita. No osso incisivo, palato e osso frontal foi notada extensa osteólise com destruição das trabéculas ósseas. E no córtex frontal do encéfalo havia área focalmente extensa de discreta microgliose. Adjacente aos granulomas notou-se proliferação de tecido conjuntivo fibroso. Nas colorações especiais de PAS e AA, houve marcação positiva na cápsula mucinosa das leveduras. Na coloração de metenamina de prata de Grocott, observou-se marcação de múltiplas leveduras redondas (Figura 6E).

Durante a necropsia foram colhidas, de forma asséptica para cultura fúngica, amostras de lesões de linfonodos, epidídimos, testículos, nódulos dos cornetos nasais, da lesão granulomatosa do osso frontal e do boleto do membro torácico direito. Na cultura de todas as amostras foram isoladas leveduras sugestivas de *Cryptococcus* spp., que foram submetidas à análise pela técnica de espectrofotometria de massa (MALDI-TOF) (Araújo *et al.*, 2018), com identificação positiva para *C. neoformans*.

Diante da confirmação, visitou-se a propriedade para identificar a provável origem ambiental do agente (Araújo Júnior *et al.*, 2015). Na propriedade existiam 36 ovinos, além de bovinos e galinhas (*Gallus gallus domesticus*). Os ovinos eram regularmente vacinados contra clostridioses e vermifugados. Não havia histórico da ocorrência de doenças e/ou lesões semelhantes às relatadas no carneiro. O animal relatado neste trabalho havia sido adquirido dois anos antes do início dos sinais clínicos. Os ovinos são criados em sistema semi-intensivo. Nos apriscos havia vários ninhos de pardais (*Passer domesticus*) e algumas árvores nos piquetes.

Fez-se duas visitas com intervalo de três meses e, em cada visita, colheu-se dois *pools* (aproximadamente 5g por *pool*) de amostras de fezes ressecadas de pardais do ambiente e de ninhos e um *pool* de raspados de cascas de troncos árvores, totalizando seis *pools* nas duas visitas. As amostras foram processadas seguindo metodologia descrita por Araújo Júnior *et al.* (2015). Não houve crescimento de colônias sugestivas de *Cryptococcus* spp. em nenhuma das amostras colhidas de fezes de pardais e de raspas de cascas de árvores.

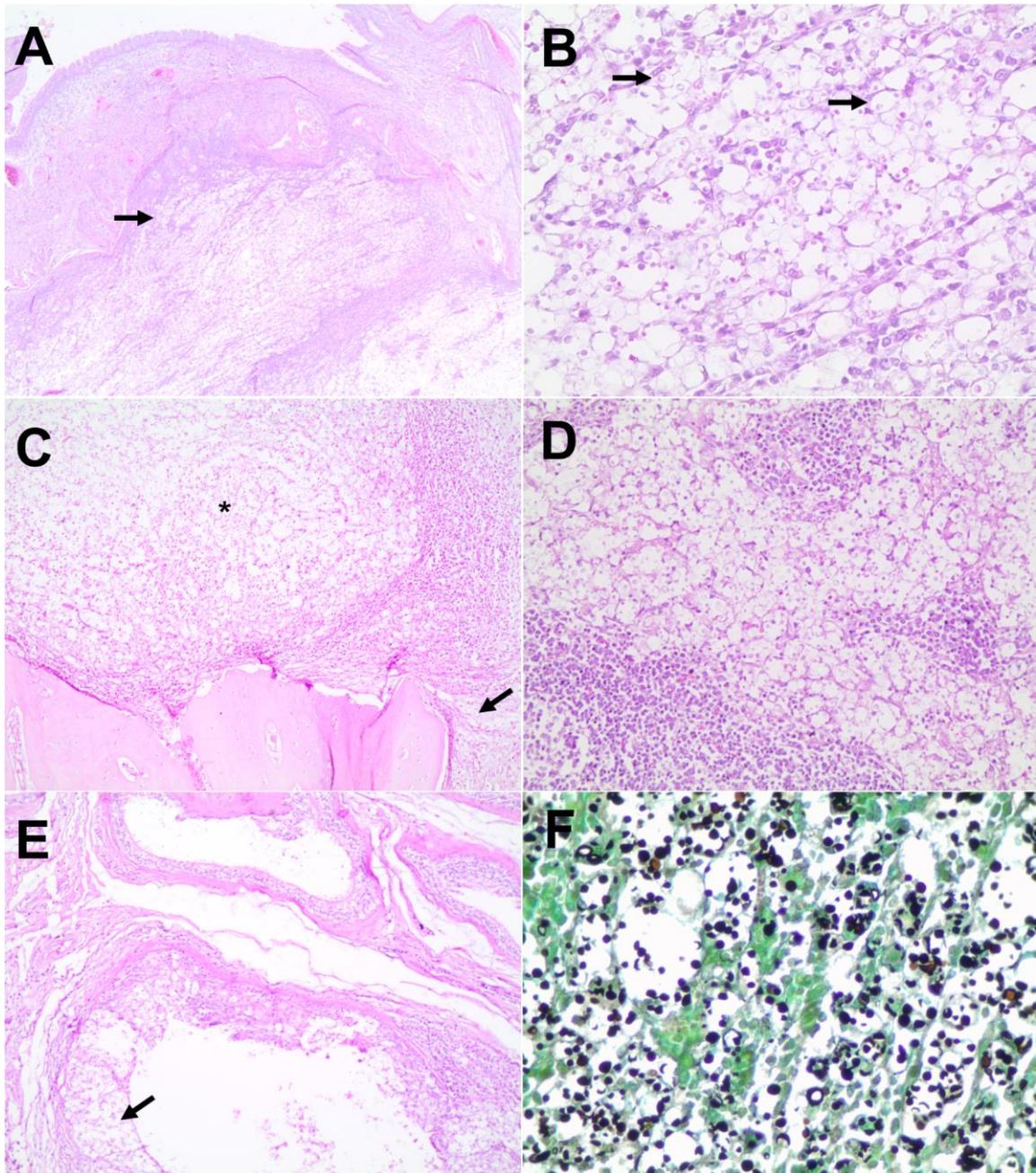


Figura 6 - Aspectos histopatológicos da criptococose disseminada em ovino adulto. A-E (coloração de hematoxilina e eosina). (A) Granuloma contendo numerosas leveduras extracelulares e intra-histiocíticas, arredondadas, não coradas, circundadas por inflamação, se expande e substitui o tecido conjuntivo submucoso nasal (seta), X40. (B) Muitos macrófagos e numerosas leveduras medindo 5-15 μ m (seta) estão presentes na submucosa nasal, X400. (C) Osteomielite do osso frontal (seta) com numerosas leveduras extracelulares e intra-histiocíticas não corantes (asterisco), X100. (D) O linfonodo é difusamente expandido por levedura não tingida, X200. (E) A parede do ducto epididimal é expandida (seta) por numerosas leveduras, X100. (F) Um granuloma testicular mostrando múltiplas leveduras redondas realçadas pela coloração especial de metenamina de prata de Grocott, X400.

DISCUSSÃO

O ovino examinado apresentava um caso atípico de criptococose crônica disseminada, com lesões granulomatosas difusas em tecido subcutâneo (dermatite granulomatosa), linfonodos (linfadenite), conchas nasais (rinite granulomatosa), testículos e epidídimos (orquiepididimite), osteomielite (metacarpo e falanges membro torácico direito, osso incisivo, ossos nasais, ossos frontais e placa cribiforme), com presença de inúmeras leveduras de *Cryptococcus neoformans*, isolado e identificado de todas as lesões granulomatosas citadas.

Este é o primeiro relato de criptococose disseminada em ovino, de acordo com o conhecimento dos autores, visto que, os relatos publicados até o momento, nesta espécie, referem-se a criptococose nasal (Macêdo *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2010) ou pulmonar (Lemos *et al.*, 2007). Destes, apenas o caso de criptococose pulmonar relatado em ovino do Rio de Janeiro, teve a confirmação da espécie como *C. neoformans* (Lemos *et al.*, 2007). Em relação aos casos de criptococose nasal, o relato da Bahia foi causado por *C. gattii* (Macêdo *et al.*, 2020) e, no caso relatado no Pernambuco, não houve identificação da espécie (Silva *et al.*, 2010).

Deve-se destacar que *C. neoformans* tem como habitat o ambiente rico em matéria orgânica, especialmente em solo com fezes de pombos e, em menor grau, fezes de morcegos e outras aves passeriformes, bem como em cascas de árvores e madeira em decomposição (Araújo Júnior *et al.*, 2015; Carmo *et al.*, 2020; Macêdo *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2010), e está associado a infecções em animais com estados imunossupressivos (Carmo *et al.*, 2020; Macêdo *et al.*, 2020). A infecção ocorre pela inalação de basidiósporos do fungo contidos no ambiente contaminado (Araújo Júnior *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2010) e, em menor frequência, pela penetração dos propágulos em lesões cutâneas (Macêdo *et al.*, 2020), sendo a provável via de infecção do ovino relatado neste estudo, que apresentava lesões crônicas na cavidade nasal, seguida de disseminação para áreas adjacentes e outros tecidos e órgãos, como já descrito na literatura (Mcgill *et al.*, 2009; Refai; El-Hariri; Alarousy, 2017).

Em áreas rurais do nordeste do Brasil encontram-se ambientes propícios à manutenção de espécies patogênicas de *Cryptococcus*, com excesso de fezes de aves no ambiente de criação, árvores com cavidades, matéria orgânica em decomposição (Macêdo *et al.*, 2020), características observadas no ambiente de criação do animal relatado neste estudo, então é possível que o local provável de

infecção tenha sido um dos locais de criação do caso descrito neste estudo. Entretanto, na propriedade de origem do animal, fez-se colheita de material de fezes dessecadas de passeriformes do ambiente, de ninhos presentes nos apriscos e de troncos de árvores nos piquetes, não tendo sido isolada nenhuma colônia sugestiva de *Cryptococcus*.

O paciente deste estudo trata-se de um ovino macho, reprodutor, de quatro anos de idade, sem histórico de doença prévia, acometido por criptococose sistêmica. Em pequenos ruminantes a infecção por *Cryptococcus* spp. pode ocorrer concomitante a outras infecções virais como as lentivirose, bacterianas crônicas ou verminoses que podem comprometer o sistema imune do animal, predispondo à ocorrência clínica da criptococose (Macêdo *et al.*, 2020). No caso apresentado, o ovino apresentava endoparasitismo por nematóides da superfamília *Strongyloidea*, o que pode ter contribuído para a diminuição da imunidade do animal. Corroborando com este fato, há relatos da ocorrência de criptococose em animais de produção, incluindo ovinos, associadas a infecção concomitante com *Mycobacterium bovis*, *Corynebacterium pseudotuberculosis* e possível verminose por *Haemonchus contortus* (Gutiérrez; Marín, 1999; Luvizotto *et al.*, 2009; Macêdo *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2011).

Neste trabalho, o diagnóstico da criptococose foi realizado inicialmente através do exame citológico, confirmado por cultura fúngica, exames de execução simples e baixo custo, não exigindo equipamentos sofisticados (Guedes *et al.*, 2000; Martins *et al.*, 2008) e grande valor diagnóstico com eficácia de 83,3% quando comparado a histopatologia (Macêdo *et al.*, 2020; Martins *et al.*, 2008). A confirmação definitiva foi obtida pela cultura e, por tratar-se de um quadro atípico de criptococose disseminada, o exame anatomopatológico foi usado para caracterizar mais adequadamente as lesões.

A criptococose é uma zoonose, portanto é uma doença que traz risco para a saúde pública. Deste modo, os animais acometidos por essa infecção podem contaminar o ambiente (Macêdo *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2010). Por isso, considerando o risco para a saúde pública e o prognóstico desfavorável do caso descrito, o animal foi eutanasiado, visto a dificuldade do tratamento da doença em animais de produção, o alto custo e há a possibilidade de recidiva, sendo recomendada a eutanásia devido ao risco de saúde pública (Fracative; Meyer; Castañeda, 2021; Macêdo *et al.*, 2020; Pennisi *et al.*, 2013)

Sendo assim, este trabalho descreveu o primeiro caso de criptococose disseminada em ovino causado por *C. neoformans*, inclusive com envolvimento ósseo. Este fato chama a atenção para os veterinários que atendem animais de produção, que devem considerar a criptococose como possível diagnóstico diferencial nos casos de lesões nodulares (abscessos, granulomas) cutâneas, osteoarticulares e nasais em ovinos.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO JÚNIOR, E.C., TÁPARO, C.V.; UCHIDA, C.Y. *Cryptococcus*: isolamento ambiental e caracterização bioquímica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 4, p. 1003–1008, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-7451>>

ARAÚJO, M.R.B.; SANTOS, E.G. de M.; WOLF, V.; SEABRA, L.F. Identification of *Cryptococcus neoformans* by MALDI-TOF mass spectrometry in blood culture. **Clin Biomed Res** [Internet], v.38, n.2, 2018. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/78285>>

CARMO, P. M. S.; UZAL, F. A.; PEDROSO, P. M. O.; RIET-CORREA, F. Conidiobolomycosis, cryptococcosis, and aspergillosis in sheep and goats: a review. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 32, n. 6, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1040638720958338>>

COLOMBO, G.; TÁPARO, C. V.; ARAÚJO JÚNIOR, E. C.; MAKATU, M. Y.; SANTOS, F. S.; MARINHO, M. Caracterização bioquímica e molecular de *Cryptococcus* spp. isolados de excretas ambientais de pombos (*Columba livia domestica*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 67, n. 6, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-7753>>

DIFFAY, B.C.; MCKENZIE, D.; WOLF, C.; PUGH, D.G. Abordagem e exame de ovinos e caprinos. In: Pugh D.G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca, 2004. p.1-19.

FRACATIVE, C.; MEYER, W.; CASTAÑEDA, E. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* Species Complexes in Latin America: A Map of Molecular Types, Genotypic Diversity, and Antifungal Susceptibility as Reported by the Latin American Cryptococcal Study Group. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 4, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390%2Fjof7040282>>

GUEDES, R. M. C.; ZICA, K. G. B.; COELHO-GUEDES, M. I. M.; OLIVEIRA, S. R. Acurácia do exame citológico no diagnóstico de processos inflamatórios e proliferativos dos animais domésticos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n.5, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-09352000000500004>>

GUTIÉRREZ, M.; MARÍN, J. F. G. *Cryptococcus neoformans* and *Mycobacterium bovis* causing granulomatous pneumonia in a goat. **Veterinary Pathology**, v. 36, n. 5, 1999. Disponível em: <<https://doi.org/10.1354/vp.36-5-445>>

LEMO, L. S.; SANTOS, A. S. O.; VIEIRA-DA-MOTA, O.; TEXEIRA, G. N.; CARVALHO, E. C. Q. Pulmonary cryptococcosis in slaughtered sheep: Anatomopathology and culture. **Veterinary Microbiology**, Elsevier, v. 125, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.11.028>>

LUVIZOTTO, M. C. R.; CARREIRA, V. S.; FERRARI, H. F.; RIBEIRO, D.; VALLIM, M. A.; AZEVEDO, V.; CARDOSO, T. C. Brain and lung cryptococcoma and concurrent *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in a goat: a case report. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1678-91992009000300015>>

MACÊDO, A. G. C.; PEIXOTO, T. C.; CARVALHO, V. S.; NAKAZATO, L.; MENESES, I. D. S.; MENDONÇA, M. F. F.; SILVA, A. W. O.; MADUREIRA, K. M. Criptococose nasal causada por *Cryptococcus gattii* em ovino na Bahia, Nordeste do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 48, n. 1, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.22456/1679-9216.104135>>

MARTINS, D. B.; BARBOSA, A. L. T.; CAVALHEIRO, A.; LOPES, S. T. A.; SANTURIO, J. M.; SCHOSSLER, J. E.; MAZZANTI, A. Diagnóstico de criptococose canina pela citologia aspirativa por agulha fina. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000300039>>

MCGILL, S.; MALIK, R.; SAUL, N.; BEETSON, S.; SECOMBE, C.; ROBERTSON, I.; IRWIN, P. Cryptococcosis in domestic animals in Western Australia: a retrospective study from 1995–2006. **Medical Mycology**, v.47, n.6, 2009, p.625–639. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/13693780802512519>>

OLIVEIRA, L. I.; PRADO, J. S.; CUNHA, B. M.; FRANÇA, T. N.; ROCHA, L. F. O.; CARROCINO, R. L.; BRITO, M. F. Criptococose pulmonar associada à infecção sistêmica por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em cabra (*Capra hircus*). **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000084>>

PENNISI, M.G.; HARTMANN, K.; LLORET, A.; FERRER, L. Cryptococcosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **J Feline Med Surg.**, v.15, n.7, p.611-8, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1098612X13489224>>

PIZANI, A. T.; SANTOS, M. O. Criptococose em pacientes HIV positivos: revisão sistemática da literatura. **Revista Saúde UniToledo**, Araçatuba, v. 1, n. 1, 2017. Disponível em: <<http://www.ojs.toledo.br/index.php/saude/article/view/2439>>

REFAI, M.; EL-HARIRI, M.; ALAROUSY, R. Cryptococcosis in animals and birds: a review. **Eur J Acad Essays**, v.4, n.8, 2017, p. 202-223.

SIKES, J. E.; MALIK, R. **Criptococose**. In: GREENE, C. E. Doenças infecciosas em cães e gatos. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. cap. 59.

SILVA, S. T. G.; SOUZA, J. C. A.; MENDONÇA, C. L.; IZAEL, M. A.; DANTAS, A. F.; PORTELA, R.; RIET-CORREA, F.; AFONSO, J. A. B. Nasal cryptococcosis in a sheep in Brazilian Semi-Arid. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 3, n. 2, 2010. Disponível em: <https://bjvp.org.br/wp-content/uploads/2015/07/DOWNLOAD-FULL-ARTICLE-24-20881_2010_11_3_34_13.pdf>

4 CAPÍTULO III

CRIPCOCOCOSE CUTÂNEA POR *CRYPTOCOCOCUS GATTII* EM CAPRINO NA PARAÍBA, BRASIL

CRÍPTOCOCOSE CUTÂNEA POR *CRYPTOCOCCUS GATTII* EM CAPRINO NA PARAÍBA, BRASIL

RESUMO

A infecção por *Cryptococcus* spp. ocorre em humanos e animais pela inalação de basidiósporos do fungo, atingindo o sistema respiratório e em alguns casos mais graves provocando alterações no sistema nervoso. No entanto, pode haver a inoculação direta do agente no hospedeiro através de escoriações na pele, causando lesões cutâneas. Nenhum caso de criptococose em caprinos no estado da Paraíba foi relatado. Desse modo, este trabalho objetivou relatar um caso de criptococose cutânea por *Cryptococcus gattii* em uma cabra no estado da Paraíba. Um caprino, SRD, fêmea, pesando 26 kg, oriundo do município de Barra de Santa Rosa, Paraíba, Brasil, foi atendido com queixa principal de diarreia líquida fétida. Ao exame físico, o animal apresentava apatia, mucosas de cor porcelana, presença de ectoparasitas e lesões na pele. Foram efetuados exames complementares e constatada anemia severa e alta carga parasitária, sendo realizado tratamento para verminose com ivermectina. Durante o período de internamento, o animal passou a apresentar tosse produtiva e ruídos durante a respiração, além de aumento de volume nodular com fistulação na região lateral da mandíbula da face. Colheu-se material por PAAF do nódulo e secreção da ferida para realização de citologia e cultura. Na citologia observou-se leveduras arredondadas rodeadas por cápsula espessa, compatíveis com *Cryptococcus* spp. O material foi semeado em meio ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e ágar semente de Níger, onde foi visto o crescimento de colônias mucosas de coloração marrom no ágar semente de Níger, características de *Cryptococcus* spp., sendo posteriormente identificadas como *C. gattii* no MALDI-TOF. Foram colhidas amostras de raspas de cascas de árvores e de solo com fezes ressecadas de passeriformes nos currais, da propriedade. Em nenhuma das amostras houve crescimento de colônias sugestivas de *Cryptococcus* spp. O animal foi eutanasiado e encaminhado para necropsia. Amostras de lesões de mento e ramo da mandíbula foram colhidas para realização de cultura fúngica, as quais foi constatado a presença de *Cryptococcus gattii*, configurando caso de criptococose cutânea em caprino no estado da Paraíba, Brasil.

Palavras-Chave: criptococose cutânea; *Cryptococcus gattii*; caprinos; zoonose.

CUTANEOUS CRYPTOCOCCOSE BY *CRYPTOCOCCUS GATTII* IN A GOAT IN PARAÍBA, BRAZIL

ABSTRACT

Infection by *Cryptococcus* spp. It occurs in humans and animals by inhalation of basidiospores of the fungus, reaching the respiratory system and in some more serious cases causing alterations in the nervous system. However, there may be direct inoculation of the agent into the host through abrasions on the skin, causing skin lesions. No case of cryptococcosis in goats in the state of Paraíba has been reported. Thus, this study aimed to report a case of cutaneous cryptococcosis by *Cryptococcus gattii* in a goat in the state of Paraíba. A female goat, SRD, weighing 26 kg, from the municipality of Barra de Santa Rosa, Paraíba, Brazil, was attended with the main complaint of fetid liquid diarrhea. Upon physical examination, the animal showed apathy, porcelain-colored mucous membranes, presence of ectoparasites and skin lesions. Complementary exams were carried out and severe anemia and high parasitic load were verified, and treatment for verminosis with ivermectin was carried out. During the hospitalization period, the animal began to present productive cough and noises during breathing, in addition to an increase in nodular volume with fistulation in the lateral region of the mandible of the face. Material was collected by FNA from the nodule and wound secretion for cytology and culture. Cytology showed rounded yeasts surrounded by a thick capsule, compatible with *Cryptococcus* spp. The material was sown on Sabouraud dextrose agar with chloramphenicol and Niger seed agar, where the growth of brown mucous colonies on Niger seed agar was seen, characteristics of *Cryptococcus* spp., later identified as *C. gattii* in MALDI-TOF. Samples of scrapings of tree bark and soil with dried passerine feces were collected in the corrals on the property. In none of the samples there was growth of colonies suggestive of *Cryptococcus* spp. The animal was euthanized and sent for necropsy. Samples of lesions on the chin and ramus of the mandible were collected for fungal culture, which confirmed the presence of *Cryptococcus gattii*, configuring a case of cutaneous cryptococcosis in a goat in the state of Paraíba, Brazil.

Keywords: cutaneous cryptococcosis; *Cryptococcus gattii*; goats; zoonosis.

INTRODUÇÃO

Os fungos do gênero *Cryptococcus* spp. são leveduras causadoras de infecções sistêmicas em humanos e animais. Apresentam uma cápsula polissacarídica característica, que não se cora com colorações de rotina para visualização microscópica, fator que contribui para seu diagnóstico. A presença da cápsula também é o fator de virulência mais importante desse fungo, o que permite sua sobrevivência no hospedeiro e no ambiente por muito tempo (Gomes *et al.*, 2010).

A infecção por *Cryptococcus* spp. pode ocorrer em humanos e distintas espécies animais como, caninos, felinos, equinos, bovinos, caprinos, ovinos, aves e silvestres. Comumente a infecção se dá por via inalatória atingindo o sistema respiratório, podendo se disseminar para o sistema nervoso (Bermann *et al.*, 2023). Há também relatos de criptococose cutânea e casos de mastite em ruminantes (Baroni *et al.*, 2016; Herculano *et al.*, 2020; Venuto *et al.*, 2023).

As espécies causadoras da criptococose consideradas mais patogênicas são *C. neoformans* e *C. gattii*. *C. neoformans* está associado a infecções oportunistas, em indivíduos imunossuprimidos, sendo encontrado em matéria orgânica em decomposição, ocos de árvores e excretas secas de aves, principalmente de pombos. Já *C. gattii* geralmente causa infecção em hospedeiros imunocompetentes, e pode ser isolado de cascas e ocos de árvores e madeira (Canavari *et al.*, 2017; Maestrone *et al.*, 2015).

Mesmo sendo incomum a ocorrência de criptococose em pequenos ruminantes no Brasil, em alguns casos relatados em caprinos, foram descritos o acometimento do sistema respiratório, sistema nervoso, em mastites e associada a outros agentes (Bianchi *et al.*, 2018; Headley *et al.*, 2019; Luvizotto *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 1994), não tendo sido encontrado nenhum relato de caso de criptococose em caprinos no estado da Paraíba. Desse modo, este trabalho objetivou relatar um caso de criptococose cutânea por *Cryptococcus gattii* em uma cabra no estado da Paraíba.

RELATO DE CASO

Um caprino, SRD, fêmea, adulto, pesando 26 kg, foi atendido com queixa principal de diarreia líquida fétida há um mês. A cabra era procedente do município de Barra de Santa Rosa, mesorregião do Agreste paraibano. Era criada em sistema extensivo, em rebanho de 30 caprinos, em que sete animais apresentaram histórico de diarreia, dos quais, quatro morreram. Os animais que apresentavam os sinais eram isolados do restante do rebanho e colocados amarrados a troncos de árvores. Em visita à propriedade foi observado que nessas árvores havia ninhos de passeriformes e alta quantidade de fezes de aves no solo.

Foram colhidas amostras de raspas de cascas de árvores e de solo com fezes ressecadas de passeriformes nos currais, perfazendo pools 5g. As amostras foram processadas seguindo metodologia descrita por Araújo Júnior *et al.* (2015). Não houve crescimento de colônias sugestivas de *Cryptococcus* spp. em nenhuma das amostras ambientais colhidas.

Ao exame físico, o animal apresentava apatia, mucosas de cor porcelana, presença de ectoparasitas e lesões na pele na face (lateral à maxila/mandíbula). O animal era vermifugado e vacinado contra clostridioses. Permaneceu internado durante quinze dias e, no decorrer desse período, foram realizados exames complementares, dentre eles hemograma, parasitológico de fezes, coprocultura e exame de fita adesiva. Foi constatada anemia severa e alta carga parasitária por piolhos da espécie *Bovicola caprae* e nematódeos da superfamília *Trichostrongyloidea* e *Eimeria* sp., sendo realizado tratamento para verminose com ivermectina.

Durante o período de internamento, o animal passou a apresentar tosse produtiva e ruídos durante a respiração, e aumento de volume da lesão nodular cutânea na lateral da mandíbula/maxila, com fistulação. Colheu-se material por punção aspirativa com agulha fina (PAAF) do nódulo e secreção da ferida para realização de citologia e cultura. Na citologia observou-se acentuada quantidade de estruturas leveduriformes variando de ovais a arredondadas, circundadas por halo não corado, compatíveis com *Cryptococcus* spp. O material foi cultivado em ágar Sabouraud com cloranfenicol e ágar semente de Níger. Houve crescimento de colônias mucosas que adquiriram coloração marrom no ágar semente de Níger, características de *Cryptococcus* spp.

Após confirmação do diagnóstico, com prognóstico desfavorável, o produtor optou pela realização da eutanásia. À necropsia o cadáver do animal apresentava escore corporal 2 (magro), numa escala de 1-5, mucosas oral e oculares pálidas. E líquido avermelhado livre em cavidade abdominal. Observou-se aumento de volume com discreta secreção serossanguinolenta em mento e ramo da mandíbula. No pulmão havia áreas focais avermelhadas. E área de aderência entre rúmen e diafragma e intestino delgado difusamente avermelhado. Observou-se ainda hemorragia intestinal moderada.

Na análise microscópica foi observado na pele, inflamação focalmente extensa, que se estendia desde a derme superficial até a derme profunda, constituída predominantemente por macrófagos. Em algumas áreas a inflamação era composta por neutrófilos e em meio a esta inflamação havia algumas estruturas leveduriformes ovaladas ou redondas de 5-15 μ m de diâmetro com paredes finas (1 μ m) e eosinofílicas, revestidas por halo pálido, não corado, de até 10 μ m de espessura (cápsula e artefato de retração), predominante livres, raramente vistas no citoplasma de macrófagos. A parede dessas leveduras marcaram positivas nas colorações de azul Alciano (Figura 1) e ácido periódico de Schiff.

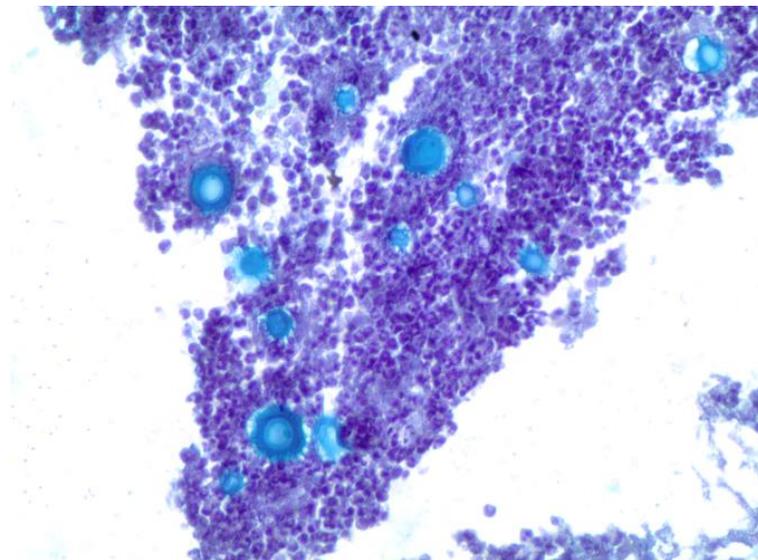


Figura 1 - Criptococose em cabra. Corte histológico de lesão cutânea evidenciando-se leveduras fortemente coradas em azul, evidenciando-se a cápsula espessa (azul Alciano).

Durante a necropsia foram colhidas, de forma asséptica para cultura fúngica, amostras de lesões mento e ramo da mandíbula. Na cultura de todas as amostras foram isoladas leveduras sugestivas de *Cryptococcus* spp., as quais foram analisadas

pela técnica de espectrofotometria de massa (MALDI-TOF) (Araújo *et al.*, 2018), e identificadas como *C. gattii*.

DISCUSSÃO

Relata-se um caso de criptococose cutânea localizada causada pelo *C. gattii* em cabra adulta. A lesão já estava invadindo o osso da mandíbula adjacente à lesão cutânea. Não foi localizada nenhuma publicação relacionada a casos de criptococose em caprinos no estado da Paraíba. Na pesquisa bibliográfica encontrou-se apenas um artigo relatando a ocorrência de criptococose cutânea em caprino adulto imunocompetente nos Estados Unidos (EUA) causada por *C. gattii* (Villarroel; Maggiulli, 2012). Foram encontradas publicações identificando criptococose em caprinos por *C. gattii* em São Paulo, causando doença pulmonar (Silva *et al.*, 2017), criptococoma pulmonar e encefálico (Luvizotto *et al.*, 2009) e, em cinco surtos na Espanha, causando doença pulmonar e neurológica (Baró *et al.*, 1998). Entretanto, em outros relatos de criptococose caprina com envolvimento neurológico e/ou pulmonar, no Brasil, nos estados do Rio de Janeiro (Oliveira *et al.*, 2011) e Mato Grosso (Headley *et al.*, 2019).

C. gattii é considerado um patógeno primário acometendo indivíduos imunocompetentes (Baró *et al.*, 1998; Chen; Meyer; Sorrell, 2014; Silva *et al.*, 2017), tendo como habitat natural material vegetal em decomposição com madeiras, cascas e ocos de diversas espécies de árvores (Araújo Júnior *et al.*, 2015; Chen; Meyer; Sorrell, 2014), com raros isolamentos a partir de fezes de aves (Araújo Júnior *et al.*, 2015). É muito adaptado aos biótipos ambientais associados à degradação da madeira (Silva *et al.*, 2017) sendo endêmico nas regiões norte e nordeste do Brasil (Nishikawa *et al.*, 2003). E, neste caso, a fonte de infecção da cabra aqui relatada, pode ter sido o ambiente de criação. Corroborando esta possibilidade, Villarroel e Magguilli (2012) sugeriram que um pequeno pedaço de palha encontrado na ferida cirúrgica pode ter sido o veículo da infecção, entretanto não puderam comprovar. No presente relato, das três colheitas de amostras ambientais da área de criação dos animais não houve crescimento de amostras sugestivas de *Cryptococcus*, sendo necessários mais estudos na região para caracterização da distribuição ambiental do agente.

A queixa clínica principal da cabra era a presença de diarreia fétida prolongada, sinais semelhantes foram apresentados por outros sete caprinos da propriedade, dos quais quatro tiveram óbito. Entretanto, apenas o animal do presente relato foi avaliado por equipe veterinária, tendo apresentado alta carga parasitária por *Eimeria* sp. e nematódeos da superfamília *Trichostrongyloidea*, resultando em anemia intensa, o que pode ter contribuído para a instalação da infecção por *C. gattii* e desenvolvimento das lesões cutâneas, apesar do agente ser considerado patógeno primário, acometendo animais imunocompetentes (Baró *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 2017).

Como a lesão foi localizada apenas no tecido subcutâneo da face, há a possibilidade de a porta de entrada ter sido uma escoriação na pele, como relatado por Villarroel e Magguilli (2012) em ferida cirúrgica nos EUA e Silva *et al.* (2010) em ovino no Pernambuco, que havia tido ferimento em arame farpado 15 dias antes do diagnóstico. Este fato pode indicar que a infecção era recente, visto que o animal não apresentou alterações em outros órgãos.

Lesões cutâneas ou alterações respiratórias ocasionadas por *Cryptococcus* spp. podem evoluir para lesões mais graves no sistema respiratório ou no sistema nervoso, como relatado em cães e gatos (Venuto *et al.*, 2023), como também em caprinos (Headley *et al.*, 2019; Luvizotto *et al.*, 2009; Stilwell; Pissarra, 2014), entretanto, este fato não foi observado no caso relatado neste estudo.

Há relatos de criptococose associados à infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis*, agente da linfadenite caseosa (Luvizotto *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2011; Stilwell; Pissarra, 2014), que pode contribuir para aumento da suscetibilidade dos animais à infecção por *Cryptococcus*. Deve-se destacar que a linfadenite caseosa é uma doença que cursa com formação de abscessos caseosos nos linfonodos superficiais, atingir vísceras em pequenos ruminantes, sendo uma doença frequente no Nordeste (Barnabé *et al.*, 2020). Desse modo, a criptococose com forma de apresentação cutânea deve ser considerada no diagnóstico diferencial da linfadenite caseosa, principalmente nas regiões com alta frequência de linfadenite caseosa.

Deve-se considerar os aspectos de saúde pública, uma vez que caprinos e ovinos com criptococose podem contaminar o ambiente (Macêdo *et al.*, 2020; Silva *et al.*, 2010), contribuindo para a expansão do nicho ecológico de *Cryptococcus* (Silva *et al.*, 2017). Nos casos de criptococose em animais de produção, o tratamento que geralmente deve ser continuado por semanas ou meses, apresenta alto custo, alta

possibilidade de recidivas, além do risco à saúde pública, eutanásia humanitária pode ser recomendada (Macêdo *et al.*, 2020; Pennisi *et al.*, 2013; Villarroel; Magguilli, 2012).

REFERÊNCIAS

ARAÚJO JÚNIOR, E.C., TÁPARO, C.V.; UCHIDA, C.Y. *Cryptococcus*: isolamento ambiental e caracterização bioquímica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 4, p. 1003–1008, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-7451>>

ARAÚJO, M.R.B.; SANTOS, E.G. de M.; WOLF, V.; SEABRA, L.F. Identification of *Cryptococcus neoformans* by MALDI-TOF mass spectrometry in blood culture. **Clin Biomed Res** [Internet], v.38, n.2, 2018. Disponível em: <<https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/78285>>

BARNABÉ, N. N. C.; ALVES, J. R. A.; FARIAS, A. E. M.; ALVES, F. S. F. Avaliação da linfadenite caseosa em caprinos em um abatedouro na região do semiárido brasileiro e estimativas de perdas econômicas por condenação de carcaças. **Semina: Ciências Agrárias**, [S. l.], v. 41, n. 6, p. 2655–2668, 2020. DOI: 10.5433/1679-0359.2020v41n6p2655.

BARÓ, T.; TORRES-RODRÍGUEZ, J. M.; MENDOZA, M. H.; MORERA, Y.; ALÍA, C. First identification of autochthonous *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* isolated from goats with predominantly severe pulmonary disease in Spain. **Journal of clinical microbiology**, v.36, n.2, 1998. p.458–461. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/JCM.36.2.458-461.1998>>

BARONI, F. A.; ABREU, D. P. B.; LIMA, D. M.; CAMPOS, S. G.; PAULA, C. R.; BOTTEON, R. C. C. M. Complexo *Cryptococcus humicola* isolado no pré e no pós-tratamento de mastite em vacas. **Rev. Bras. Med. Vet**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 2, 2016. Disponível em: <<https://rbmv.org/BJVM/article/download/164/103/379>>

BERMANN, C. S.; BRAGA, C. Q.; IANISKI, L. B.; BOTTON, S. A.; PEREIRA, D. I. B. Cryptococcosis in domestic and wild animals: A review. **Medical Mycology**, v. 61, n. 2, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/mmy/myad016>>

BIANCHI, R. M.; CECCO, B. S.; SCHWERTZ, C. I.; PANZIERA, W.; ANDRADE, C. P.; SPANAMBERG, A.; RAVAZZOLO, A. P.; FERREIRO, L.; DRIEMEIER, D. Pneumonia by *Cryptococcus neoformans* in a goat in the Southern region of Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 10, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180372>>

CANAVARI, I. C.; VARGAS, G. H.; TINUCCI-COSTA, M.; CAMPRESI, A. C. Criptococose: revisão de literature. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 9, 2017. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653009010>>

CHEN, S. C. A.; MEYER, W.; SORRELL, T. C. *Cryptococcus gattii* Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 4, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/CMR.00126-13>>

GOMES, F. S.; SARMENTO, D. N.; SANTO, E. P. T. E.; SILVA, S. H. M. Quimiotipagem e caracterização fenotípica de *Cryptococcus* isolados em Belém, Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 1, n. 4, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232010000400007>>

HEADLEY, S. A.; PIMENTEL, L. A.; MICHELAZZO, M. Z.; TOMA, H. S.; PRETTO-GIORDANO, L. G.; MARCASSO, R. A.; AMUDE, A. M.; OLIVEIRA, T. E.; SANTOS, M. D.; KROCKENBERGER, M. Pathologic, histochemical, and immunohistochemical findings in pulmonary and encephalitic cryptococcosis in a goat. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 31, n. 1, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1040638718816358>>

HERCULANO, L. F. S.; GALINDO, V. R.; CAVALCANTE NETO, T. S.; SANTOS, L. F. L. Criptococose cutânea canina: relato de caso. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 14, n. 4, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.26605/medvet-v14n4-3939>>

LUVIZOTTO, M. C. R.; CARREIRA, V. S.; FERRARI, H. F.; RIBEIRO, D.; VALLIM, M. A.; AZEVEDO, V.; CARDOSO, T. C. Brain and lung cryptococcoma and concurrent corynebacterium pseudotuberculosis infection in a goat: a case report. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 15, n. 3, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1678-91992009000300015>>

MACÊDO, A. G. C.; PEIXOTO, T. C.; CARVALHO, V. S.; NAKAZATO, L.; MENESES, I. D. S.; MENDONÇA, M. F. F.; SILVA, A. W. O.; MADUREIRA, K. M. Criptococose nasal causada por *Cryptococcus gattii* em ovino na Bahia, Nordeste do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 48, n. 1, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.22456/1679-9216.104135>>

MAESTRALE, C.; MASIA, M.; PINTO, D.; LOLLAI, S.; KOZEL, T. R.; PORTÕES-HOLLINGSWORTH, M. A.; CANCEDDA, M. G.; CABRAS, P.; PIRINO, S.; D'ASCENZO, V.; LIGIOS, C. Características genéticas e patológicas de *Cryptococcus gattii* e *Cryptococcus neoformans* var. **Microbiologia Veterinária**, v. 177, n. 3-4, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.03.008>>

NISHIKAWA, M. M.; LAZERA, M. S.; BARBOSA, G. G.; TRILLES, L.; BALASSIANO, B. R.; MACEDO, R. C. L.; BEZERRA, C. C. F.; PÉREZ, M. A.; CARDARELLI, P.; WANKE, B. Serotyping of 467 *Cryptococcus neoformans* Isolates from Clinical and Environmental Sources in Brazil: Analysis of Host and Regional Patterns. **Journal of clinical Microbiology**, v. 41, n. 1, 2003. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128%2FJCM.41.1.73-77.2003>>

OLIVEIRA, L. I.; PRADO, J. S.; CUNHA, B. M.; FRANÇA, T. N.; ROCHA, L. F. O.; CARROCINO, R. L.; BRITO, M. F. Criptococose pulmonar associada à infecção sistêmica por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em cabra (*Capra hircus*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000084>>

PENNISI, M.G.; HARTMANN, K.; LLORET, A.; FERRER, L. Cryptococcosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **J Feline Med Surg.**, v.15, n.7, p.611-8, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1098612X13489224>>

SILVA, E. C.; GUERRA, J. M.; TORRES, L. N.; LACERDA, A. M. D.; GOMES, R. G.; RODRIGUES, D. M.; RÉSSIO, R. A.; MELVILLE, P. A.; MARTIN, C. C.; BENESI, F. J.; SÁ, L. R. M.; COGLIATI, B. *Cryptococcus gattii* molecular type VGII infection associated with lung disease in a goat. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 41, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12917-017-0950-6>>

SILVA, S. T. G.; SOUZA, J. C. A.; MENDONÇA, C. L.; IZABEL, M. A.; DANTAS, A. F.; PORTELA, R.; RIET-CORREA, F.; AFONSO, J. A. B. Nasal cryptococcosis in a sheep in Brazilian Semi-Arid. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 3, n. 2, 2010. Disponível em: <https://bjvp.org.br/wp-content/uploads/2015/07/DOWNLOAD-FULL-ARTICLE-24-20881_2010_11_3_34_13.pdf>

SINGH, M.; GUPTA, P. P.; RANA, J. S.; JAND, S. K. Clinico-pathological studies on experimental cryptococcal mastitis in goats. **Mycopathologia**, v. 126, n. 3, 1994. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/bf01103768>>

STILWELL, G.; PISSARRA, H. Cryptococcal meningitis in a goat – a case report. **BMC Veterinary Research**, v. 10, n. 84, 2014. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1746-6148/10/84>>

VENUTO, A. M.; MOUTA, A. N.; HONORATO, R. A.; FONSÊCA, A. D. V.; CAVALCANTE, F. R. A.; MAGALHÃES, L. C.; MELO, C. H. S. CRIPTOCOCOSE RESPIRATÓRIA E CUTÂNEA EM GATO DE VIDA LIVRE DA CIDADE DE SOBRAL/CE. **Ciência Animal**, v. 33, n. 1, 2023. Disponível em: <<https://revistas.uece.br/index.php/cienciaanimal/article/view/10498>>

VILLARROELL, A.; MAGGIULLI, T.R. Rare *Cryptococcus gattii* infection in an immunocompetent dairy goat following a cesarean section. **Medical mycology case reports**, v.1, n.1, p.91-94, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mmcr.2012.09.005>>

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A criptococose é uma doença que pode causar diversos sinais clínicos em pequenos ruminantes, neste trabalho foram relatadas manifestações típicas da criptococose, mas também sinais diferentes dos comumente descritos nessas espécies. Relatos de casos como estes são de extrema importância para oferecer melhor conhecimento sobre sinais clínicos, diagnóstico, achados de necropsia e aspectos epidemiológicos, visto que a criptococose é uma zoonose.

Pequenos ruminantes acometidos com criptococose podem contaminar o ambiente, trazendo riscos à saúde pública. Ocorrendo contaminação ambiental o fungo pode sobreviver no ambiente por meses, aumentando a probabilidade da ocorrência de infecções. Sendo assim, estudos como este trazem recursos para melhorias no manejo da criação, o que pode evitar a ocorrência desta doença, contribuindo para o controle desta zoonose.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO JÚNIOR, E.C., TÁPARO, C.V.; UCHIDA, C.Y. *Cryptococcus*: isolamento ambiental e caracterização bioquímica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 4, p. 1003–1008, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-7451>>

ARAÚJO JÚNIOR, E. C. ***Cryptococcus*: Isolamento Ambiental e Caracterização Bioquímica**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/127992/000849974.pdf;jsessionid=62B917FF2E94827EA40BAAE30C097BD8?sequence=1>>

BARONI, F. A.; ABREU, D. P. B.; LIMA, D. M.; CAMPOS, S. G.; PAULA, C. R.; BOTTEON, R. C. C. M. Complexo *Cryptococcus humicola* isolado no pré e no pós-tratamento de mastite em vacas. **Rev. Bras. Med. Vet**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 2, 2016. Disponível em: <<https://rbmv.org/BJVM/article/download/164/103/379>>

BIANCHI, R. M.; CECCO, B. S.; SCHWERTZ, C. I.; PANZIERA, W.; ANDRADE, C. P.; SPANAMBERG, A.; RAVAZZOLO, A. P.; FERREIRO, L.; DRIEMEIER, D. Pneumonia by *Cryptococcus neoformans* in a goat in the Southern region of Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 48, n. 10, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20180372>>

CANAVARI, I. C.; VARGAS, G. H.; TINUCCI-COSTA, M.; CAMPLES, A. C. Criptococose: revisão de literature. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 18, n. 9, 2017. Disponível em: <<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653009010>>

CARMO, P. M. S.; UZAL, F. A.; PEDROSO, P. M. O.; RIET-CORREA, F. Conidiobolomycosis, cryptococcosis, and aspergillosis in sheep and goats: a review. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v. 32, n. 6, 2020. Disponível em: <<https://doi:10.1177/1040638720958338>>

CHEN, S. C. A.; MEYER, W.; SORRELL, T. C. *Cryptococcus gattii* Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 4, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/CMR.00126-13>>

FADDA, M. E.; PISANO, M. B.; SCACCABAROZZI, L.; MOSSA, V.; DEPLANO, M.; MORONI, P.; LICARDI, M.; COSENTINO, S. Use of PCR-restriction fragment length polymorphism analysis for identification of yeast species isolated from bovine intramammary infection. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 12, 2013. Disponível

em: <<https://doi.org/10.3168/jds.2013-6996>>

GOMES, F. S.; SARMENTO, D. N.; SANTO, E. P. T. E.; SILVA, S. H. M. Quimiotipagem e caracterização fenotípica de *Cryptococcus* isolados em Belém, Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 1, n. 4, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232010000400007>>

GUEDES, P. E. B.; OLIVEIRA, T. N. A.; SANTOS, J. A.; LAVOR, M. S. L.; SILVA, F. L.; MARTINS, L. A. F.; CARLOS, R. S. A. Cryptococcosis in a cat. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. 1, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.22456/1679-9216.95918>>

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Lista de municípios do Semiárido Brasileiro**. IBGE, 2021. Disponível em: <https://geoservicos.ibge.gov.br/geoserver/CGMAT/wms?service=WMS&version=1.1.0&request=GetMap&layers=CGMAT%3Aqg_2021_080_semiarido&bbox=-73.9904499689999%2C-33.7511779939999%2C-28.847639914%2C5.27184107700002&width=768&height=663&srs=EPSG%3A4674&styles=&format=application/openlayers>

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **PPM - Produção da Pecuária Municipal 2021**. Prod. Pec. munic., Rio de Janeiro: IBGE, v. 49, p.1-12, 2022. ISSN 0101-423. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2021_v49_br_informativo.pdf>

LEMOS, L. S.; SANTOS, A. S. O.; VIEIRA-DA-MOTTA, O.; TEXEIRA, G. N.; CARVALHO, E. C. Q. Pulmonary cryptococcosis in slaughtered sheep: anatomopathology and culture. **Veterinary Microbiology**, v. 125, n. 3-4, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.11.028>>

MACÊDO, A. G. C.; PEIXOTO, T. C.; CARVALHO, V. S.; NAKAZATO, L.; MENESES, I. D. S.; MENDONÇA, M. F. F.; SILVA, A. W. O.; MADUREIRA, K. M. Criptococose nasal causada por *Cryptococcus gattii* em ovino na Bahia, Nordeste do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 48, n. 1, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.22456/1679-9216.104135>>

MENEZES, T.; SCAIN, G.; QUADROS, R. M.; MILETTI, L. C.; SOUZA, A. L.; MIGUEL, R. L.; MARQUES, S. M. T. *Cryptococcus spp.* EM EXCRETAS DE POMBOS (*Columba livia*) DE ÁREAS PÚBLICAS DE LAGES, SANTA CATARINA. **Science and Animal Health**, v. 2, n. 2, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.15210/sah.v2i2.4109>>

MONTEIRO, M. G.; BRISOLA, M. V.; VIEIRA FILHO, J. E. R. Diagnóstico da Cadeia Produtiva de Caprinos e Ovinos no Brasil. **Ipea**, Brasília, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/10621/2/td_2660.pdf>

NUNES, T. J. C. **Identificação Molecular de Sorotipos e Determinação de Mating Type de Isolados Clínicos de *Cryptococcus* spp.** 2013. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/ri/bitstream/ri/16454/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o_ICS_%20Talita%20de%20Jesus%20Caldas%20Nunes.pdf>

PIZANI, A. T.; SANTOS, M. O. Criptococose em pacientes HIV positivos: revisão sistemática da literatura. **Revista Saúde UniToledo**, Araçatuba, v. 1, n. 1, 2017. Disponível em: <<http://www.ojs.toledo.br/index.php/saude/article/view/2439>>

POHLMAN, L. M.; CHENGAPPA, M. M. Fungos: *Cryptococcus*, *Malassezia* e *Candida*. In: MCVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. cap. 44.

QUADROS, D. G. Cadeia produtiva da ovinocultura e da caprinocultura. **UNIASSELVI**, Indaial, 2018. Disponível em: <<https://www.uniasselvi.com.br/extranet/layout/request/trilha/materiais/livro/livro.php?codigo=30566>>

REGO FILHO, F. S.; FERNANDES, A. R. P. M.; MENEZES, E. R. Inovação no Semiárido Brasileiro: um estudo bibliométrico. **Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais**, v. 11, n. 7, 2020. Disponível em: <<https://sustenere.co/index.php/rica/article/download/CBPC2179-6858.2020.007.0031/2391/11295>>

RIET-CORREA, F.; SIMÕES, S. V. D.; AZEVEDO, E. O. PRINCIPAIS ENFERMIDADES DE CAPRINOS E OVINOS NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO. In: XV Congresso Latinoamericano de Buiatría e XXXIX Jornadas Uruguayas de Buiatría, 15, 2011, Uruguai. **Anais eletrônicos** [...] Uruguai: Centro Medico Veterinario Paysandú, 2011. Disponível em: <<http://centromedicoveterinariopaysandu.com/wp-content/uploads/2014/08/clin-y-pat.-Riet-Correa-II-2011.pdf>>

SANTANA, M. M. O. Aspectos da Ovinocaprinocultura no Semiárido Nordeste. **Revista Gestão Universitária**, 2017. Disponível em: <<http://gestaouniversitaria.com.br/artigos/aspectos-da-ovinocaprinocultura-no-semiarido-nordestino>>

SILVA, S. T. G.; SOUZA, J. C. A.; MENDONÇA, C. L.; IZABEL, M. A.; DANTAS, A. F.; PORTELA, R.; RIET-CORREA, F.; AFONSO, J. A. B. Nasal cryptococcosis in a sheep in Brazilian Semi-Arid. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 3, n. 2, 2010. Disponível em: <<https://bjvp.org.br/wp-content/uploads/2015/07/DOWNLOAD-FULL-ARTICLE-24-20>>

SOUZA, N. P.; VALIATTI, T. B.; NOVAIS, V. P.; ROMÃO, N. F.; SOBRAL, F. O. S. Avaliação de *Cryptococcus neoformans* em excretas de pombos (*Columba livia*) no perímetro urbano do município de Ji-paraná, Rondônia, Brasil. **Revista Saúde (Santa Maria)**, v. 44, n. 3, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.5902/2236583431790>>

SPANAMBERG, A.; WUNDER JÚNIOR, E. A.; PEREIRA, D. I. B.; ARGENTA, J.; SANCHES, E. M. C.; VALENTE, P.; FERREIRO, L. Etiología de la mastitis bovina producida por levaduras en el sur de Brasil. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 25, n. 3, 2008. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(08\)70036-6](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(08)70036-6)>

TOSCANO, M. F. **Estudo retrospectivo e espacial de diagnósticos anatomopatológicos da criptococose canina e felina em municípios do Estado de São Paulo**. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba, 2022. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/216052>>

XAVIER, M. O.; MADRID, I. M. Doenças Fúngicas em Aves. In: CUBAS, Zalmir Silvino; SILVA, Jean Carlos Ramos; CATÃO-DIAS, José Luiz. **Tratado de Animais Selvagens**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2014. cap. 70.