

Isolados ambientais de *Cryptococcus*: caracterização, formação de biofilme e perfil de sensibilidade antifúngica.

MARIA JÚLIA SIQUETO¹, GABRIEL REZENDE PIMENTA ¹, MARCOS WILLIAM DE LIMA GUALQUE ¹, ANA MARISA FUSCO ALMEIDA¹

¹. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO , FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, ARARAQUARA/SP, BRASIL

Introdução: A criptococose é uma infecção sistêmica causada pelas leveduras encapsulas *C. neoformans* e *C. gattii*, que comumente afetam indivíduos imunocomprometidos e imunocompetentes, respectivamente. A Organização Mundial da Saúde classificou- às como patógenos prioritários. A formação de biofilmes, além da superexpressão do gene ERG 11 (codifica o alvo dos azóis e de outros fármacos) estão entre os principais fatores de resistência aos antifúngicos, entre eles: Fluconazol (FLC) e Anfotericina B (AMB), prejudicando o tratamento da doença. Trabalhos que comparam cepas isoladas do ambiente às clínicas possuem resultados que variam quanto as espécies de *Cryptococcus* e susceptibilidade aos diferentes fármacos. Demandando mais estudos.

Objetivos: Avaliar o fenótipo e o perfil de sensibilidade aos antifúngicos de isolados *Cryptococcus* obtidos de área rural e urbana, bem como a capacidade de formar biofilme e quantificar o gene ERG11.

Materiais e Métodos: Foram coletadas e isoladas amostras de excretas de *C. livia* e do tronco de *E. camaldulensis*. O fenótipo foi verificado por Microscopia Óptica com Nanquim; ágar Níger; ureia de Christensen e Canavanina-Glicina- Azul de Bromotimol (CGB). Biofilmes foram formados por 2, 12, 24 e 48h para Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e quantificação da matriz extracelular (ME). O ERG 11 foi quantificado por RT-qPCR antes e após a formação dos biofilmes (2 e 48h). O ensaio de susceptibilidade foi realizado em células planctônicas e biofilme (maiores concentrações de fármacos). As cepas ATCCs (American Type Culture Collection) *C. neoformans* 90112 e *C. gattii* 56990 foram utilizadas como controles.

Resultados: A microscopia mostrou leveduras envoltas em um halo descorado (cápsula) de *Cryptococcus*. Os meios de cultura diferenciais mostraram que os isolados produziram melanina (níger +), enzima urease (ureia +) e assimilação da glicina (CGB +), fenótipo de *C. gattii*. Os isolados exibiram menor produção de ME em relação as ATCCs, conservando: pré-adesão a biofilme maduro. A cepa rural mostrou maior produção de ME em todos os tempos comparada à urbana. A susceptibilidade foi semelhante para ATCCs e isolados, sendo CFM (Concentração Fungicida Mínima) da AMB $\leq 0,06 \mu\text{g/mL}$ para todas as cepas e CIM do FLC para rural: $45,6 \mu\text{g/mL}$; urbana: $41,8 \mu\text{g/mL}$; ATCCs 90112: $45,4 \mu\text{g/mL}$ e 56990: $46,6 \mu\text{g/mL}$. Biofilmes: AMB expressou CFM $\leq 0,05 \mu\text{g/mL}$ para cepas ambientais e $0,125 \mu\text{g/mL}$ para ATCCs e FLC apresentou CIM $> 256 \mu\text{g/mL}$ para todas as cepas. MEV dos biofilmes: (2h) ausência de microcolônias e baixa adesão; (12h) aumento da densidade celular e pré-produção de ME; (24-48h) estrutura com ME

robusta, cápsula e filamentos de adesão. O ERG 11 se mostrou mais expresso nos biofilmes em comparação ao planctônico, para isolados e ATCCs.

Discussão e Conclusão: Embora *C. neoformans* esteja associado a ambientes urbanos, os achados evidenciam a ocorrência de *C. gattii* nesse ambiente. As cepas isoladas se mostraram potencialmente patogênicas, devido à presença de fatores de virulência correspondentes às ATCCs. O biofilme induz aumento da resistência ao FLC, destacado por CIM >256 µg/mL e superexpressão de ERG 11. A produção bruta de ME da cepa rural sugere adaptação ao ambiente adverso, como presença de herbicidas. Dado que *C. gattii* pode afetar imunocompetentes e que cepas ambientais são variáveis quanto sua patogênese, virulência e resistência, os resultados ampliam a compreensão sobre o patógeno.

Agradecimentos: O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. Processo nº 2025/03994-4.