



Influência das condições nutricionais na virulência e resistência antifúngica de *Cryptococcus* spp.

Influence of nutritional conditions on virulence and antifungal resistance of *Cryptococcus* spp.

Karina Raquel Guilhon Machado¹; Haryne Lizandrey Azevedo Furtado²; Julliana Ribeiro Alves dos Santos³; Rodrigo Assunção de Holanda⁴

Resumo: Criptococose é uma micose que apresenta uma morbimortalidade significativa e pode acometer tanto indivíduos imunocomprometidos quanto imunocompetentes. A infecção é adquirida após a inalação dos propágulos fúngicos de *Cryptococcus* spp. que estão presentes em diversos nichos ambientais, como locais arborizados, solos, praças, restos de vegetais e excretas envelhecidas de aves, como espécies de *Columba livia*. Esta diversidade demonstra a capacidade deste fungo crescer em ambientes com diferentes condições nutricionais. Os fármacos mais utilizados para o tratamento da criptococose são os antifúngicos pertencentes às classes dos derivados azólicos e poliênicos, no entanto, estudos indicam o desenvolvimento de resistência antifúngica. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi descrever a influência de diferentes macronutrientes e micronutrientes na virulência e resistência antifúngica de *Cryptococcus* spp. Para isso foi realizada uma pesquisa bibliográfica de artigos científicos publicados em periódicos nacionais e internacionais, utilizando os bancos de dados SciELO, PubMed e Google Acadêmico, publicados entre 2010 e 2021. Os macronutrientes e micronutrientes presentes no solo e vários organismos são de grande importância para os fungos e seus hospedeiros. Em espécies de *Cryptococcus* spp. são utilizados para constituição, funções bioquímicas, crescimento e virulência. Diferentes concentrações desses nutrientes podem afetar a expressão de determinantes de virulência, além de possivelmente estarem relacionadas com alterações na suscetibilidade de *Cryptococcus* spp. frente aos antifúngicos mais usados na clínica. Uma vez que esses nutrientes apresentam influência na interação patógeno-hospedeiro se faz

¹ Acadêmica do 6º período do curso de Biomedicina, Laboratório de Micologia, Universidade Ceuma, São Luís- MA, Brasil. E-mail: guilhon.krm@gmail.com

² Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Biologia Microbiana, Laboratório de Micologia, Universidade Ceuma, São Luís- MA, Brasil. E-mail: haryne.lizandrey@gmail.com

³ Docente do curso de Biomedicina e Medicina, do Mestrado em Meio Ambiente e do Mestrado em Biologia Microbiana, Laboratório de Micologia, Universidade Ceuma, São Luís- MA, Brasil. E-mail: julliana.santos@ceuma.br

⁴ Docente do curso de Biomedicina, do Mestrado em Biologia Microbiana e do Mestrado em Gestão de Programas e Serviços de Saúde, Laboratório de Micologia, Universidade Ceuma, São Luís- MA, Brasil. E-mail: raholanda@yahoo.com.br



necessária a realização de mais estudos sobre interação nutricional e susceptibilidade de *Cryptococcus* spp.

Palavras-chave: *Cryptococcus*; Criptococose; Resistência antifúngica; Nutrientes

Abstract: Cryptococcosis is a mycosis that presents significant morbidity and mortality and can affect both immunocompromised and immunocompetent individuals. The infection is acquired after inhalation of *Cryptococcus* spp., which are present in several environmental niches, such as wooded areas, soils, squares, vegetable remains, and aged bird droppings, more precisely, in species of *Columba livia*. This diversity demonstrates the ability of this fungus to grow in environments with different nutrient concentrations. The drugs most used for the treatment of cryptococcosis are the antifungals belonging to the classes of azolic and polyene derivatives, however, studies indicate the development of antifungal resistance. In this context, the aim of this work was to report the influence of macronutrients and micronutrients on the virulence and antifungal resistance of *Cryptococcus* spp. For this, a literature search of scientific articles published in national and international journals was conducted, using the SciELO, PubMed and Google Academic databases, published between 2021. Macronutrients and micronutrients present in the soil and various organisms are of great importance for fungi and their hosts. In *Cryptococcus* spp species they are used for constitution, biochemical functions, growth and virulence. Different concentrations of these nutrients can affect the expression of virulence determinants, and are possibly related to changes in the susceptibility of *Cryptococcus* spp to the most commonly used antifungal drugs in the clinic. Since these nutrients influence the pathogen-host interaction, further studies on nutritional interaction and susceptibility of *Cryptococcus* spp.

Keywords: *Cryptococcus*; Cryptococcosis; Antifungal Resistance, Nutrients

Introdução

Criptococose é uma micose causada por *Cryptococcus* spp. que ocorre tanto em indivíduos imunocomprometidos quanto em indivíduos imunocompetentes e apresenta uma morbimortalidade significativa (AJESH; SREEJITH, 2012; BROWN et al., 2012; FIRACATIVE et al., 2018; GULLO et al., 2013; PARK et al., 2009; SCHNEIDER et al., 2012). Dentre os países da América Latina, o Brasil apresentou o maior número de isolados clínicos ou ambientais de *Cryptococcus* spp. (FIRACATIVE et al., 2018).

Cryptococcus spp. são leveduras que residem em diversos nichos ecológicos e crescem em diferentes condições nutricionais. As espécies comumente relacionadas são *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii* (CHEN et al., 2008; CHOWDHARY et al., 2011; FIRACATIVE et al., 2018), porém, com o passar dos anos, houve um aumento na frequência de infecções causadas por espécies ditas como saprófitas, onde *C. laurentii* e *C. albidus*, juntos, são responsáveis por 80% dos casos não



neoformans e não *gattii* notificados (AJESH; SREEJITH, 2012; BROWN et al., 2012; MAY et al., 2016).

Os agentes antifúngicos mais utilizados para o tratamento da criptococose são os pertencentes às classes dos derivados azólicos (como fluconazol, itraconazol, voriconazol) e poliênicos (anfotericina B) podendo ou não estarem associadas (MAY et al., 2016; GULLO et al., 2013). A criptococose, assim como outras doenças infecciosas, apresenta um problema crescente, que é a resistência a antimicrobianos, tornando o tratamento por vezes um desafio (ANDRADE-SILVA et al., 2013; BERNAL-MARTINEZ et al., 2010; FERREIRA-PAIM, 2012; GULLO et al., 2013).

Cryptococcus apresenta a capacidade de crescer em ambientes com diferentes concentrações de macro e micronutrientes, os quais são importantes para o metabolismo da levedura, no entanto, há uma escassez de dados acerca da influência desses nutrientes na resistência primária aos antifúngicos de uso clínico (MEDNICK et al., 2005; MA; MAY, 2009). Assim, esse trabalho objetivou descrever as condições nutricionais e a virulência e resistência antifúngica de *Cryptococcus* spp.

Metodologia

Nesse estudo foi realizada uma revisão de literatura, com uma abordagem descritiva acerca da associação entre as condições nutricionais e a resistência antifúngica de *Cryptococcus* spp. O levantamento bibliográfico ocorreu por meio de busca nas bases de dados online: Scientific Electronic Library Online (SciELO), PubMed e Google acadêmico, coletando artigos disponíveis em texto completo, no idioma inglês e português entre os anos de 2010 e 2021.

Foram utilizados como descritores da pesquisa: “*Cryptococcus*”, “criptococose”, “resistência antifúngica”, “nutrientes”, “cryptococcosis”, “antifungal resistance” and “nutrients”. A seleção consistiu primeiro na análise dos títulos e resumos. Após a leitura completa dos textos, o critério de inclusão se deu pela relevância temática condizente aos critérios mencionados acima e foram excluídos do estudo os materiais que não se enquadraram nos critérios descritos e que não tinham disponibilidade de referência.

Resultados e discussão

***Cryptococcus* spp.**

O gênero *Cryptococcus* é formado por 39 espécies de leveduras e pertence à classe Blastomycetes e a família Cryptococcaceae. Os fungos desse gênero estão presentes em inúmeros



nichos ambientais que apresentam diferentes concentrações de nutrientes, tais como locais arborizados, solo, praças, áreas próximas a hospitais, restos de vegetais, poeira doméstica, excretas envelhecidas de aves, principalmente em espécies de *Columba livia* (MA; MAY, 2009; FIRACATIVE et al., 2018).

Cryptococcus spp. são agentes etiológicos da criptococose, uma infecção geralmente adquirida por inalação dos propágulos fúngicos ambientais. Inicialmente, devido a seu alojamento no pulmão, ocorre infecção pulmonar primária. Em decorrência de uma resposta imune ineficaz, a levedura pode se disseminar do pulmão, cruzar a barreira hematoencefálica e afetar o sistema nervoso central, que sem o tratamento adequado pode ser fatal (MA; MAY, 2009; MAY et al., 2016; KRONSTAD et al., 2011; BROWN et al., 2012; SHAPIRO; ROBBINS; COWEN, 2011; TEMFACK et al., 2019).

Alguns fatores de virulência foram descritos como característicos para *Cryptococcus* spp., tais como crescimento a 37 °C, presença de uma complexa cápsula de polissacarídeo, biossíntese do pigmento melanina, síntese de enzimas extracelulares, capacidade de replicar e escapar de células hospedeiras fagocíticas de invertebrados e resistência ao estresse oxidativo, dentre outros. Tais fatores além de oferecerem proteção contra as pressões ambientais, corroboram para a instauração da criptococose (MEDNICK et al., 2005; TEMFACK, 2019; MAY et al., 2016; SUBRAMANIAN et al., 2005; KRONSTAD et al., 2011; SHAPIRO; ROBBINS; COWEN, 2011).

Os processos infecciosos em indivíduos imunocomprometidos e imunocompetentes são causados por poucas espécies. Vários estudos relatam que *C. neoformans* e *C. gattii* estão comumente envolvidas em infecções humanas. A espécie *C. neoformans* acomete principalmente indivíduos imunocomprometidos e é caracterizada como a principal causa de criptococose e morte em pessoas com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), além de acometer indivíduos sem problemas de saúde aparente em menor número. Já *C. gattii* está geralmente associada à doença em indivíduos imunocompetentes (BROWN et al., 2012; CHOWDHARY et al., 2011; FIRACATIVE et al., 2018; SCHNEIDER et al., 2012; GULLO et al., 2013; KRONSTAD et al., 2011; SHAPIRO; ROBBINS; COWEN, 2011; TEMFACK et al., 2019).

Nas últimas décadas, houve um aumento na frequência de infecções causadas por espécies classicamente não patogênicas. As espécies não-*neoformans* e não-*gattii* estão sendo gradativamente mencionadas na literatura como patógenos oportunistas ao serem identificadas como agentes em infecções humanas, principalmente em indivíduos com sistema imune comprometido. Dentre essas



espécies, *C. laurentii* e *C. albidus* são as mais comuns (AJESH; SREEJITH, 2012; BERNAL-MARTINEZ et al., 2010; GULLO et al., 2013).

Nutrientes ambientais

Os macronutrientes e micronutrientes são elementos presentes no solo necessários para manutenção de organismos, e independentemente da quantidade são relevantes para o ambiente em que se encontram (DIMKPA; BINDRABAN, 2016). Os metabolismos desses nutrientes são de grande importância para o hospedeiro bem como para o patógeno, e ambos desenvolveram estratégias para obtenção desses recursos (POTRYKUS et al., 2014).

A interação dos fungos com alguns nutrientes foi objeto de estudos importantes, dentre eles o zinco, cobre e ferro (DING et al., 2011; JUNG; KRONSTAD, 2008; KRONSTAD; HU; JUNG, 2013; POTRYKUS et al., 2014; SCHNEIDER et al., 2012). O metal zinco, por exemplo, se mostrou importante para o crescimento de *Cryptococcus* spp., segundo estudo de Schneider et al. (2012), as células fúngicas analisadas apresentaram crescimento diminuído na privação de zinco quando comparado ao meio rico com esse nutriente. Por outro lado, o cobre desempenha importantes funções nos processos bioquímicos em *Cryptococcus* spp., como formação da melanina, um pigmento de proteção e fator de virulência (DING et al., 2011; KRONSTAD et al., 2012).

O ferro é um dos micronutrientes mais abundantes no organismo humano e um dos mais estudados para *Cryptococcus* spp. O desequilíbrio nos níveis de ferro é prejudicial para o hospedeiro e interferem na virulência do patógeno e no grau da infecção, a exemplo, se tem o estudo realizado em camundongos onde ocorreu o agravamento de meningoencefalite criptocócica (BARLUZZI et al., 2002). Sabe-se que as vias de homeostase do ferro estão relacionadas com a virulência da levedura ao participarem da regulação da formação da cápsula de polissacarídeo e do pigmento melanina (JUNG; KRONSTAD, 2008; POTRYKUS et al., 2014).

Em um contexto de processo infeccioso, o hospedeiro pode desenvolver um estado de imunidade nutricional, onde o organismo limita a biodisponibilidade de nutrientes importantes para o patógeno, dificultando o desenvolvimento do invasor. Nos fungos, a privação de nutrientes pode afetar a expressão de determinantes de virulência (KRONSTAD; HU; JUNG; 2013; POTRYKUS et al., 2014; SILVA et al., 2011).



Resistência antifúngica

Nas últimas décadas, houve um aumento dos relatos de infecções fúngicas. As infecções superficiais apresentam maior incidência que as sistêmicas, no entanto, essas últimas são mais preocupantes por sua alta taxa de morbidade e mortalidade. Alguns fatores que contribuem para essa circunstância são o aumento mundial da incidência da AIDS, pacientes submetidos a transplantes de órgãos ou quimioterapia, além do aumento no uso de imunossupressores, entre outros (BROWN et al., 2012; MAY et al., 2016; PERLIN et al., 2015). Devido à alta taxa de morbimortalidade das infecções invasivas, a profilaxia antifúngica de indivíduos imunocomprometidos tornou-se uma prática médica adotada rotineiramente (SHOR; PERLIN, 2015).

A expansão do uso de antifúngicos está relacionada à resistência microbiana, um dos grandes problemas crescentes de saúde pública global. A resistência microbiana se caracteriza pela capacidade de os microrganismos resistirem à ação de antimicrobianos (SHOR; PERLIN, 2015; GULLO et al., 2013; SHAPIRO; ROBBINS; COWEN, 2011).

A susceptibilidade antifúngica é impactada tanto pelo uso indiscriminado de drogas antifúngicas, como por meio da exposição dos fungos ambientais aos compostos fungicidas utilizados amplamente na agricultura, com intuito de evitar crescimento fúngico, alterando assim a sensibilidade dos fungos a partir do nicho ambiental (SNELDERS et al., 2009). Estudos realizados com *Cryptococcus* spp. mostraram resistência a drogas de uso clínico, o que tem sido associado a alguns mecanismos como alteração do alvo da droga, a superexpressão de bombas de efluxo e a modulação das vias de sinalização de estresse (SHAPIRO; ROBBINS; COWEN, 2011; GULLO et al., 2013).

Até o momento, *C. neoformans* e *C. gattii* são as espécies com susceptibilidade antifúngica mais estudadas do gênero em comparação com as não-*neoformans*, como *C. laurentii*. Os perfis de susceptibilidade dos isolados ambientais e clínicos variam em estudos. Isolados de *C. neoformans* e *C. gattii* apresentaram resistência ou perfil de sensibilidade reduzido aos antifúngicos comumente usados (anfotericina B, 5-fluorocitosina, fluconazol e itraconazol), enquanto em outros estudos, se mostraram susceptíveis ou sensíveis dose dependentes (TRILLES et al., 2004; PFALLER et al., 2005; CHOWDHARY et al., 2011; ANDRADE-SILVA et al., 2013). A variabilidade na resistência é mantida para *C. laurentii* (BERNAL-MARTINEZ et al., 2010; AJESH; SREEJITH, 2012; FERREIRA-PAIM, 2012).

O surgimento de cepas resistentes se torna progressivamente preocupante, sendo que esses antifúngicos são os mais usados no tratamento da criptococose, e a ausência de uma terapia oportuna, seja por atraso no diagnóstico ou carência de um medicamento antifúngico eficaz, pode ser fatal. De



certo, existe uma necessidade de novas estratégias e acredita-se que interações entre antifúngicos possam ser eficazes, a exemplo da anfotericina B e 5-fluorocitosina, comumente prescritas em combinação no tratamento da criptococose. Combinações com efeitos sinérgicos entre outros antifúngicos também foram mencionadas (MA; MAY, 2009; GULLO et al., 2013; TEMFACK et al., 2019).

Relação entre a resistência e condições nutricionais

No estudo de Andrade-Silva e colaboradores (2013) foi relatado que isolados ambientais de *C. neoformans* e *C. gattii* apresentaram menor suscetibilidade aos derivados azólicos do que isolados clínicos. A sensibilidade reduzida aos azólicos também já foi mencionada para *C. laurentii* e essas descobertas são interessantes considerando a origem ambiental desses isolados (FERREIRA-PAIM et al., 2012). Essa resistência pode ter sido adquirida por exposição prévia do microrganismo a compostos semelhantes aos antifúngicos.

Ademais, podemos sugerir, com base nos dados ainda não publicados pelo nosso grupo, que a interação dos isolados de *C. laurentii* com diferentes concentrações de macronutrientes e micronutrientes pode estar relacionada com a redução da sensibilidade frente aos antifúngicos mais utilizados no tratamento de criptococose. Foi mencionado em um estudo com *Cryptococcus*, que há uma conexão entre a deficiência de ferro e a suscetibilidade aos antifúngicos, causando interesse na terapia combinada sinérgica. A ausência do gene *cfol* diminuiu a tolerância ao fluconazol que passou de atividade fungistática a fungicida (KRONSTAD; HU; JUNG, 2013).

Estudos realizados com micronutrientes enfocam a importância e participação na virulência dos fungos durante a interação patógeno-hospedeiro. Há uma escassez de estudos em relação à interferência dos nutrientes no perfil de sensibilidade antifúngica, ressaltando, assim, que pesquisas são importantes como contribuição para o entendimento da suscetibilidade antifúngica e virulência de *Cryptococcus* spp.

Conclusão

Nota-se que os micronutrientes são essenciais para os fungos na estrutura, funcionalidade, virulência e suscetibilidade antifúngica. A presença desses nutrientes no ambiente é um dos fatores que pode alterar a sensibilidade e resistência dos microrganismos. O aumento progressivo de resistência antifúngica e a frequente presença de *Cryptococcus* nas infecções fúngicas são uma problemática a ser resolvida. A negligência em relação à doença pode ser atribuída à falta de



conhecimento a respeito de *Cryptococcus* e da interferência dos nutrientes sobre o microrganismo. Evidencia-se a necessidade de mais estudos sobre esse microrganismo, em relação à sua capacidade de crescimento em ambientes com diferentes concentrações de macronutrientes e micronutrientes para investigar a conexão com os padrões de suscetibilidade aos antifúngicos de uso clínico.

Referências Bibliográficas

ANDRADE-SILVA, L. et al. Susceptibility profile of clinical and environmental isolates of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in Uberaba, Minas Gerais, Brazil. **Medical mycology**, v. 51, n. 6, p. 635-640, 2013.

AJESH, K.; SREEJITH, K. *Cryptococcus laurentii* biofilms: structure, development and antifungal drug resistance. **Mycopathologia**, v. 174, n. 5-6, p. 409-419, 2012.

BARLUZZI, R. et al. Iron overload exacerbates experimental meningoencephalitis by *Cryptococcus neoformans*. **Journal of neuroimmunology**, v. 132, n. 1-2, p. 140-146, 2002.

BERNAL-MARTINEZ, L. et al. Susceptibility profile of clinical isolates of non-*Cryptococcus neoformans*/non-*Cryptococcus gattii* *Cryptococcus* species and literature review. **Medical Mycology**, v. 48, n. 1, p. 90-6, 2010.

BROWN, G. D. et al. Hidden Killers: Human Fungal Infections. **Science Translational Medicine**, v.4, n.165, pág.165rv13-165rv13, 2012.

CHEN, J. et al. *Cryptococcus neoformans* strains and infection in apparently immunocompetent patients, China. **Emerging infectious diseases**, v. 14, n. 5, p. 755, 2008.

CHOWDHARY, A. et al. In vitro antifungal susceptibility profiles and genotypes of 308 clinical and environmental isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* and *Cryptococcus gattii* serotype B from north-western India. **Journal of medical microbiology**, v. 60, n. 7, p. 961-967, 2011.

DIMKPA, C. O.; BINDRABAN, P. S. Fortificação de micronutrientes para produção agrônômica eficiente: uma revisão. **Agronomia para o Desenvolvimento Sustentável**, v. 36, n. 1, pág. 7, 2016.

DING, C. et al. The copper regulon of the human fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* H99. **Mol. Microbiol.**, v. 81, p. 1560-1576, 2011.

JUNG, W. H.; KRONSTAD, J. W. Iron and fungal pathogenesis: a case study with *Cryptococcus neoformans*. **Cellular microbiology**, v. 10, n. 2, p. 277-284, 2008.

KHAWCHAROENPORN, T.; APISARNTHANARAK, A.; MUNDY, L. M. Non-*neoformans* cryptococcal infectious: a systematic review. **Infection**, v. 35, p. 51-7, 2007.



- KRONSTAD, J. W. et al. Expanding fungal pathogenesis: *Cryptococcus* breaks out of the opportunistic box. **Nature reviews Microbiology**, v. 9, n. 3, p. 193-203, 2011.
- KRONSTAD, J. et al. Adaptation of *Cryptococcus neoformans* to mammalian hosts: integrated regulation of metabolism and virulence. **Eukaryotic cell**, v. 11, p. 109-118, 2012.
- KRONSTAD, J. W.; HU, G.; JUNG, W. H. An encapsulation of iron homeostasis and virulence in *Cryptococcus neoformans*. **Trends in Microbiology**, v. 21, p. 457–465, 2013.
- LANJEWAR, D. N. The spectrum of clinical and pathological manifestations of AIDS in a consecutive series of 236 autopsied cases in Mumbai, India. **Pathology research international**, v. 2011, 2011.
- MAY, R. C. et al. *Cryptococcus*: from environmental saprophyte to global pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 2, p. 106-117, 2016.
- MEDNICK, A. J.; NOSANCHUK, J. D.; CASADEVALL, A. Melanization of *Cryptococcus neoformans* affects lung inflammatory responses during cryptococcal infection. **Infection and immunity**, v. 73, n. 4, p. 2012-2019. 2005.
- PARK, B. J. et al. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. **AIDS**, v. 23, n. 4, p. 525-530, 2009.
- PFALLER, M. A. et al. Global trends in the antifungal susceptibility of *Cryptococcus neoformans* (1990 to 2004). **Journal of clinic microbiology**, v. 43, n. 5, p. 2163-7, 2005.
- POTRYKUS, J. et al. Conflicting Interests in the Pathogen – Host Tug of War: Fungal Micronutrient Scavenging Versus Mammalian Nutritional Immunity. **PLoS Pathog**, v. 10, n. 3, p. e1003910, 2014.
- SCHNEIDER, R. de O. et al. Zap1 regulates zinc homeostasis and modulates virulence in *Cryptococcus gattii*. **PLoS ONE**, v. 7, n. 8, p. e43773, 2012.
- SHAPIRO, R. S.; ROBBINS, N.; COWEN, L. E. Regulatory circuitry governing fungal development, drug resistance, and disease. **Microbiology and molecular biology reviews**, v. 75, n. 2, p. 213-267, 2011.
- SHOR, E.; PERLIN, D. S. Coping with Stress and the Emergence of Multidrug Resistance in Fungi. **PLoS Pathogens**, v. 11, n. 3, p. e1004668, 2015.
- SILVA, M. G. et al. The homeostasis of iron, copper, and zinc in *Paracoccidioides brasiliensis*, *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*, and *Cryptococcus gattii*: a comparative analysis. **Frontiers in microbiology**, v. 2, p. 49, 2011.
- SNELDERS, E. et al. Possible Environmental Origin of Resistance of *Aspergillus fumigatus* to Medical Triazoles. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 75, n. 12, p. 4053-4057, 2009.
- SUBRAMANIAN, S.; MATHAI, D. Clinical manifestations and management of cryptococcal infection. **Journal of postgraduate medicine**, v. 51, n. 5, p. 21, 2005.



TEMFACK, E. et al. New insights into *Cryptococcus* spp. biology and cryptococcal meningitis. **Current neurology and neuroscience reports**, v. 19, n. 10, p. 1-10, 2019.

TRILLES, L. et al. In vitro antifungal susceptibility of *Cryptococcus gattii*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 10, p. 4815-4817, 2004.