

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ROMULO PEREIRA DE MOURA SOUSA

*Cryptococcus neoformans* E *Cryptococcus gattii*:  
**QUIMIOTIPAGEM E CORRELAÇÃO COM CRIPTOCOCOSE  
EM HOSPITAIS PÚBLICOS DE JOÃO PESSOA – PB**

João Pessoa – PB  
2013

ROMULO PEREIRA DE MOURA SOUSA

*Cryptococcus neoformans* E *Cryptococcus gattii*:  
**QUIMIOTIPAGEM E CORRELAÇÃO COM CRIPTOCOCOSE  
EM HOSPITAIS PÚBLICOS DE JOÃO PESSOA – PB**

Monografia apresentada à coordenação de farmácia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba como pré-requisito para obtenção do título de Farmacêutico-Farmacêutico.

Orientadora: Profa. Dra. Zélia Braz  
Vieira Da Silva Pontes  
Coorientadora: Ma. Neuza Maria  
Cavalcante De Oliveira

João Pessoa – PB  
2013

S729c **Sousa, Romulo Pereira de Moura.**

*Cryptococcus neoformans e Cryptococcus gattii*: quimiopagem e correlação com criptococose em hospitais públicos de João Pessoa - PB / Romulo Pereira de Moura Sousa. -- João Pessoa: [s.n.], 2013.

61 f.: il. -

*Orientadora: Zélia Braz Vieira da Silva Pontes.*

*Coorientadora: Neuza Maria Cavalcante de Oliveira.*

*Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.*

ROMULO PEREIRA DE MOURA SOUSA

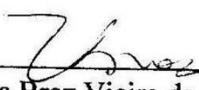
*Cryptococcus neoformans* E *Cryptococcus gattii*:  
**QUIMIOTIPAGEM E CORRELAÇÃO COM CRIPTOCOCOSE  
EM HOSPITAIS PÚBLICOS DE JOÃO PESSOA – PB**

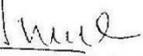
Monografia apresentada à coordenação de farmácia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba como pré-requisito para obtenção do título de Farmacêutico-Farmacêutico.

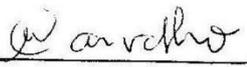
João Pessoa-PB, 25 de março de 2013.

Resultado: A - Aprovado

BANCA EXAMINADORA

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Zélia Braz Vieira da Silva Pontes  
Universidade Federal da Paraíba

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima  
Universidade Federal da Paraíba

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Maria de Fátima Farias Peixoto Carvalho  
Faculdade Santa Emília de Rodat

## AGRADECIMENTOS

Á Deus por ter permitido tão grandiosa vitória.

Aos meus pais, Romualdo Xavier e Naurizete Pereira por ter me dado total apoio e condições para tal conquista.

Ao meu irmão Ramilo Pereira que me acompanhou durante tal jornada.

À minha namorada Neuma Porcino que sempre esteve ao meu lado me dando força.

Ao meu tio Janduí Pereira por ter ajudado a custear meus estudos.

À Prof.<sup>a</sup> e orientadora Dr.<sup>a</sup> Zélia Braz por ter me proporcionado tão estimada orientação.

À Fátima e Neusa por ter compartilhado de seus conhecimentos durante minha vida acadêmica.

Aos médicos infectologistas Dra. Joana D’Arc Morais da Silva Frade e Dr. Benedito Bruno de Oliveira.

Aos meus queridos amigos e professores do colegial que me ajudaram na construção e realização desse sonho.

Aos professores e técnicos da UFPB que não mediram esforços na difusão do conhecimento.

Aos meus colegas de graduação, Turma Tarja Preta, com quem compartilhei um dos melhores momentos da minha vida.

A todos vocês,

**MUITO OBRIGADO!**

**“Não negligencies o dom que há em ti, o qual te foi concedido mediante profecia, com a imposição das mãos do presbitério. Cuida de ti mesmo e do teu ensino; continua nessas coisas; porque, fazendo isso, salvarás tanto a ti mesmo como aos que te ouvem.”**

*Timóteo 4: 14, 16*

## RESUMO

A criptococose é uma micose de natureza sistêmica e cosmopolita, causada pela infecção do *Cryptococcus neoformans* (oportunista) e *C. gattii* (patógeno primário), cujo envolvimento do SNC se dá de forma artilosa. O objetivo foi constatar o diagnóstico da infecção, a identificação das espécies, das formas clínicas, dos fatores de risco, da distribuição geográfica e dos parâmetros clínicos, em imunodempriado ou imunocompetentes, com suspeita clínica de criptococose, assistidos em hospitais de João Pessoa-PB no período de 1998 a 2012. Os dados foram coletados através de ficha clínica, epidemiológica e prontuário, já a definição de caso, foi estabelecido pelo Ministério da Saúde. Foram diagnosticados 25 casos de criptococose, sendo 23 casos de neurocriptococose, 1 caso de neurocriptococose mais a forma pulmonar e 1 caso de criptococose cutânea, com prevalência de 12,2%. Quanto à origem dos pacientes, 40% habitavam a Mesorregião da Mata Paraibana, 24% o Agreste Paraibano e 8% o Sertão Paraibano, do remanescente, 8% pertenciam ao Estado de Pernambuco e em 20% não houve registro. A predominância foi no gênero masculino com 68% dos casos, na faixa etária de 21 - 50 anos, e os 32% do gênero feminino tinha idade inferior a 17 anos. *C. neoformans* foi responsável por 56% dos casos e *C. gattii* por 24%, sendo que, 20% dos casos não puderam ser quimiotipados. Os sinais e sintomas mais frequentes foram desorientação, inconsciência, febre, vômito, rigidez na nuca, cefaleia, alterações visuais e irritabilidade (múltipla resposta). A AIDS foi o principal fator de risco (36%), seguido de LES (4%), HIV+ (4%), linfoma + sepse (4%) e um registrado como indivíduo imunodeprimido (4%). Do restante, 32% não tinham doença de base e 16% não houve o registro. Quanto à gravidade, 96% apresentaram disseminação para o SNC e 4% a forma cutânea localizada. O esquema terapêutico baseou-se em anfotericina B e sua forma lipossomal, e fluconazol em concentrações variadas. Nesse estudo, 32% pacientes foram a óbito, 48% receberam alta hospitalar e em 20% não houve registro.

Palavras-chave: criptococose, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus gattii* e quimiotipagem.

## ABSTRACT

Cryptococcosis is a mycosis in nature systemic and cosmopolitan, caused by infection with *Cryptococcus neoformans* (opportunistic) and *C. gattii* (primary pathogen), whose CNS involvement occurs in a slick. The objective was to verify the diagnosis of infection, species identification, clinical forms, risk factors, geographic distribution and clinical parameters in immunocompetent or immunocompromised, with clinical suspicion of cryptococcosis, assisted in hospitals in João Pessoa-PB from 1998 to 2012. The data were collected through medical records, epidemiological and medical records, as the case definition was established by the Health of Ministry. Were diagnosed 25 cases of cryptococcosis, 23 cases of cryptococcosis meningitis, 1 case of pulmonary cryptococcosis more cryptococcosis meningitis and 1 case cutaneous cryptococcosis, with a prevalence of 12.2%. Regarding the origin of the patients, 40% lived in the Mesorregião da Mata Paraibana, 24% the Agreste Paraibano and 8% the Sertão Paraibano, the remaining 8% belonged to the state of Pernambuco and in 20% there was no record. Most patients were male with 68% of cases, aged 21-50 years, and 32% of females were younger than 17 years. *C. neoformans* was responsible for 56% of cases and *C. gattii* by 24%, and 20% of the cases could not be biotyped. The signs and symptoms were more frequent disorientation, unconsciousness, fever, vomiting, stiff neck, headache, visual changes and irritability (multiple response). AIDS was the main risk factor (36%), followed by SEL (4%), HIV + (4%), sepsis + lymphoma (4%) and recorded as immunocompromised individuals (4%). Of the remainder, 32% had no underlying disease and 16% had no record. The gravity, 96% had spread to the CNS and 4% localized cutaneous form. The treatment regimen was based on amphotericin B and liposomal form, and fluconazole in varying concentrations. In this study, 32% patients died, 48% were discharged and 20% had no record.

Keywords: cryptococcosis, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus gattii* e biotyping.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Imagem microscópica de <i>Cryptococcus</i> spp. corado pela tinta nanquim.....	21
Figura 2 - Cultivo de <i>C. neoformans</i> em ASD .....	22
Figura 3 - Cultivo de <i>C. neoformans</i> e <i>C. gattii</i> em agar níger .....	22
Figura 4 - Frequência de internações por micoses sistêmicas. Brasil, 2000-2007 .....	27
Figura 5 - Meio CGB diferenciando <i>C. gattii</i> (em azul) <i>C. neoformans</i> (amarelo claro) .....	29
Figura 6 - Distribuição da criptococose no Estado da Paraíba .....	41
Figura 7 - Distribuição anual dos 25 casos de criptococose no período de 1998 a 2012 .....	42
Figura 8 - Quimiotipagem das 25 cepas de leveduras do Complexo <i>C. neoformans-C. gattii</i> .....	43
Figura 9 - Fatores de risco relacionados aos 25 pacientes com criptococose.....	43
Figura 10 - Formas da criptococose nos 25 pacientes infectados.....	44
Figura 11 - Frequência da resposta clínica pós-tratamento dos 25 pacientes com criptococos. .....	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Roteiro para tratamento* das formas pulmonares de criptococose em HIV negativo. Pacientes com pesquisa de antígeno criptocócico e cultura em LCR .....	33
Tabela 2 - Roteiro para tratamento* das formas pulmonares de criptococose, HIV positivo ou cultura positiva de espécime respiratório, sem envolvimento do SNC .....	33
Tabela 3 - Categorias indicando a força de evidência de cada recomendação.....	33
Tabela 4 - Tratamento em paciente HIV negativo para criptococose em sistema nervoso central.....	34
Tabela 5 - Pacientes HIV positivo e outras formas de imunodepressão. Tratamento da criptococose no sistema nervoso central ou doença disseminada.....	34
Tabela 6 - Distribuição da criptococose por faixa etária e gênero dos pacientes.....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

AMPc - Monofosfato cíclico de adenosina

ASD - Agar Sabouraud dextrose

CDB - Meio de cultura de creatinina-dextrose-azul de bromotimol

CGB - Meio de cultura de L-canavanina-glicina-azul de bromotimol

DNA - Ácido desoxirribonucleico

EV - Endovenoso

GCP - Meio de cultura de glicina-cicloheximida-vermelho fenol

HAART - Terapia antirretroviral altamente ativa

HE - Hematoxilina-Eosina

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

IV - Intravenoso

LCR - Líquido cefalorraquidiano (líquor)

LES - Lupus Eritematoso Sistêmico

N - Norte

NE - Nordeste

PAS - Ácido periódico de Schiff

PCR - Reação em cadeia da polimerase

SNC - Sistema Nervoso Central

TARV - Terapia antirretroviral

VO - Via oral

µm - micrômetro

mg- miligrama

mg/dia - miligrama por dia

mg/Kg/dia - miligrama por quilograma por dia

mg/mL - miligrama por mililitro

pH - potencial hidrogeniônico

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	12
2 OBJETIVOS .....	15
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos .....	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	17
3.1 Aspectos históricos .....	18
3.2 Patogenia.....	19
3.3 Agentes etiológicos .....	21
3.4 Fatores de virulência .....	22
3.5 Ecologia .....	23
3.6 Aspectos epidemiológicos .....	24
3.7 Manifestações clínicas .....	27
3.8 Diagnóstico clínico e laboratorial .....	28
3.9 Tratamento .....	30
3.10 Controle e profilaxia .....	35
4 METODOLOGIA.....	37
4.1 Desenho do Estudo .....	38
4.2 Caso suspeito .....	38
4.3 Caso confirmado .....	38
4.4 Doença e resposta clínica.....	39
4.5 Parâmetros clínicos .....	39
4.6 Taxa de prevalência .....	39
5 RESULTADOS .....	40
6 DISCUSSÃO .....	45
7 CONCLUSÃO.....	51
REFERÊNCIAS .....	54
ANEXO .....	61

# INTRODUÇÃO

---

A criptococose estar entre as infecções fúngicas emergentes de significativa letalidade e morbidade, principalmente sob forma de meningoencefalite, que geralmente é secundária a processos cutâneos ou pulmonares, seja em indivíduos imunodeprimidos ou imunocompetentes (EGHWRUDJAKPOR; ALLISON, 2009; LACAZ et al., 2002).

Também conhecida como torulose, blastomicose européia e doença de Busse-Buschke, é uma micose de natureza sistêmica, causada por fungos do complexo *Cryptococcus neoformans*, atualmente com duas espécies: *C. neoformans* e *C. gattii* (BARONI et al., 2006). Apesar de serem os principais patógenos entre as 37 espécies desse gênero, a literatura relata raros casos causados por outras espécies, como *C. albidus* e *C. laurentii*, em criptococose cutânea secundária (BOEKHOUT et al., 2001).

Seu agente foi identificado pela primeira vez em 1894 em lesão de tibia, já no Brasil, os primeiros relatos de criptococose foram feitos em 1941 por Carlos da Silva Lacaz e em 1944 por Floriano de Almeida (MENDES, 2009). No cenário paraibano, o estudo da neurocriptococose, com relato de dois casos (CHAVES et al., 1972; SALES, 1980), ainda é muito limitado quando comparado aos do Sul e Sudeste do país (ALVES et al. 2001; DELGADO et al. 2005; DINIZ et al. 2005).

A infecção é causada por leveduras encapsuladas, sendo dois tipos sexuais:  $\alpha$  e  $a$  (LACAZ et al., 2002), cinco sorotipos: A, B, C, D e AD com base na reatividade diferencial da cápsula com soros policlonais de coelho (GAGO et al., 2011) e com quatro tipos moleculares: *C. neoformans* (VN1/AFLP1, VNII/AFLP1A, VNIII/AFLP3 e VNIV/AFLP2) e *C. gattii* (VG1/AFLP4, VGII/AFLP6, VGIII/AFLP5 e VGIV/AFLP7) (KIDD et al., 2004; MEYER et al., 2009). Além da cápsula, o crescimento a 37°C, a produção de melanina, de enzimas oxidases e proteases, as propriedades antifagocitárias dos polissacarídeos capsulares e a atividade ureia são aspectos fenotípicos que traduzem a virulência dessas leveduras (CASADEVALL; PERFECT, 1998).

A infecção natural ocorre em homens e animais por inalação de propágulos, sob a forma de leveduras desidratadas, presentes no meio ambiente (LACAZ et al., 2002; SEVERO et al., 2009). Dois quadros clínicos epidemiológicos distintos e predominantemente são reconhecidos: 1- criptococose por *C. neoformans*, infecção oportunista, cosmopolita, associada a condições de imunodepressão celular, como a AIDS (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida); 2- criptococose por *C. gattii*, endêmica em áreas tropicais e subtropicais, que atinge indivíduos imunocompetentes, similar a outras micoses sistêmicas. No entanto, ocorrem outras formas clínicas com variação de etiologia, como por exemplo,

infecção fatal por *C. neoformans* em imunocompetente ou infecção por *C. gattii* em AIDS (BLANCH et al., 2010; KWON-CHUNG & BENNETT, 1992; PINTO, 2010).

No Brasil, estudos clínicos epidemiológicos mostram a importância da criptococose por *C.gattii* do SNC (Sistema Nervoso Central) em adultos jovens de ambos os sexos e crianças nas regiões N e NE, com letalidade que variou entre 35% a 50% (CAVALCANTI, 1995; CORRÊA et al., 1999; NISHIKAWA et al., 2003; OLIVEIRA, 2004).

*C. neoformans* sorotipo A é cosmopolita, presente em microfocos urbanos, associado à ocos de árvores, habitats de aves, como de pombos, canários e periquitos (BARONI et al., 2006; FILIÚ et al., 2002; MELO et al., 1993). *C. gattii* foi inicialmente associado a restos vegetais de *Eucalyptus camaldulensis* na Austrália (ELLIS; PFEIFFER, 1990). Essa associação específica entre *C. gattii* e eucaliptos já não cabe. No Brasil, *C. gattii* foi encontrado em árvores tropicais como cássia, oiti, ficus, mulungu “guetarda” (LAZÉRA et al., 1998).

O diagnóstico da criptococose é realizado pela forma clínica e por exames micológicos (exame microscópico direto – tinta nanquim e cultivo) e sorológicos e, quando necessário o histopatológico. A quimiotipagem permite separar as duas espécies do Complexo *C. neoformans* (KWON-CHUNG et al., 1982).

Uma vez diagnosticada, a farmacoterapia depende da forma clínica. Na criptococose disseminada o esquema terapêutico de primeira escolha é a anfotericina B, na dose de 1mg/Kg/dia, IV, não ultrapassando 50mg/dia, durante seis semanas. E em caso de toxicidade utiliza-se a formulação lipídica da anfotericina B, na dose de 3 a 5 mg/Kg/dia. E na fase de consolidação, utiliza-se o fluconazol, na dose de 200 a 400 mg/dia, VO ou EV, por aproximadamente seis semanas, ou associado à anfotericina B, até a negatificação da cultura. Já nas formas pulmonares ou com sintomas leves, utiliza-se o fluconazol, na dose de 200 mg/dia, por seis a doze meses, ou o itraconazol, na dose de 200 mg/dia, por seis a doze meses (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

## OBJETIVOS

---

## 2.1 Objetivo geral

Considerando que a criptococose está entre as infecções fúngicas emergentes de significativa letalidade e morbidade, principalmente sob a forma de meningoencefalite, e que seu estudo no Estado da Paraíba ainda é muito restrito quando comparado aos do Sul e Sudeste do país, o presente trabalho tem como finalidade:

- Avaliar a quimiotipagem das cepas do complexo *C. neoformans* - *C. gattii* e correlacioná-las com os casos de criptococose registrados no Hospital Universitário Lauro Wanderley (1998-2012) e Complexo Hospitalar Dr. Clementino Fraga (1998-2007), ambos localizados na cidade de João Pessoa-PB.

## 2.2 Objetivos específicos

- Coletar dados epidemiológicos e clínicos dos pacientes com criptococose.
- Estudar a prevalência, os fatores de risco e caracterizar as formas clínicas da criptococose.
- Verificar a distribuição geográfica da micose, em função do domicílio dos usuários, como também sua distribuição por gênero e idade dos pacientes.
- Identificar os agentes da criptococose: *C. neoformans* e *C. gattii*, baseado na quimiotipagem com o meio CGB.
- Avaliar os parâmetros clínicos dos pacientes com criptococose.
- Verificar se a farmacoterapia aplicada está condizente com os protocolos clínicos atuais.

# FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

---

### 3.1 Aspectos Históricos

O marco inicial dos estudos sobre a criptococose e seu agente etiológico foi em 1894, na Alemanha, onde *C. neoformans* foi isolado e identificado pela primeira vez como patógeno humano por Busse (patologista) e Buschke (clínico), denominando-o de *Saccharomyces hominis*. E no mesmo ano, na Itália, Sanfelice isolou uma levedura encapsulada em suco de pêssigo e denominou a mesma de *S. neoformans* (SIDRIM; ROCHA, 2004).

Em 1895, o patologista Curtis descreveu uma levedura isolada de tumores de partes moles e pele, denominando a mesma de *S. subcutaneus tumefasciens* ou *Megalococcus myxoides* (BIVANCO et al., 2006).

Em 1901, o micologista Vuillemin analisou as leveduras isoladas por Busse (1894) e Sanfelice (1894) e constatou que as mesmas apresentava ausência de ascósporos e de fermentação de carboidratos, fato este que ia de encontro ao gênero *Saccharomyces*. Então, ele as classificou como gênero *Cryptococcus*, sendo assim, ficaram denominadas de *C. hominis* e *C. neoformans* (PASA, 2011).

No início do século XX, esta infecção foi relatada em vários órgãos, entre eles cérebro, pulmão e pele. Em 1905, foi descrito o primeiro caso de meningoencefalite no homem, e em 1912, Rusk e Farnell, descreveram dois casos de criptococose no SNC e um nos pulmões (SEIXAS, 2008).

Em 1916, nos Estados Unidos, Stoddard e Cutle reviram casos de meningoencefalite e denominaram o agente de *Torula histolyticae* a doença de torulose (SIDRIM; ROCHA, 2004). Logo depois, Benham (1935) concluiu que se tratava de uma única espécie, o *C. hominis*, contendo duas variedades, que anos depois, denominou a infecção de criptococose e seu agente de *C. neoformans* (PASA, 2011).

Evans, 1949, com base em diferentes padrões de aglutinação entre anticorpos e fatores séricos presentes em soro de coelhos, descreveu os sorotipos A, B e C para *C. neoformans*, sendo o sorotipo D e o híbrido AD descobertos logo depois (SEIXAS, 2008).

Vanbreuseghem e Takashio, em 1970, sugeriram a existência da variedade *gattii*; no entanto, sua existência só foi aceita posteriormente (SEIXAS, 2008). Melo e colaboradores (1993) relataram que descobertas possibilitaram grandes avanços na quimiotipagem de *C. neoformans*, separando-o em duas variedades, *neoformans* e *gattii*.

Em 1970, Kwon-Chung descobriu duas formas sexuadas de *C. neoformans* que produziram basidiósporos férteis *in vitro*, descrevendo assim *Filobasidiella neoformans* (*C.*

*neoformans*) e *F. bacillispora* (*C. gattii*). E baseado no cruzamento sexuado, *C. neoformans* foi reduzido a uma só espécie e duas variedades: variedade *neoformans* (sorotipos A, D e AD) e variedade *gattii* (sorotipos B e C) (SEIXAS, 2008).

Franzot e colaboradores (1999), com base em características genéticas, sugeriram a denominação de *C. neoformans* variedade *grubii* aos isolados do sorotipo A (LACAZ et al., 2001).

Taxonomicamente esse agente era subclassificado em *C. neoformans* variedade *neoformans*, *C. neoformans* variedade *grubii* e *C. neoformans* variedade *gattii* (BLANCH et al., 2010). Atualmente, é referenciado como complexo *Cryptococcus neoformans* – *Cryptococcus gattii*, cujo sorotipo A se refere ao *C. neoformans* variedade *grubii* e o sorotipo D ao *C. neoformans* variedade *neoformans*. Os sorotipos B e C representam uma nova espécie, *C. gattii*, pois apresenta diferenças genéticas e biológicas (GAGO et al., 2011; PASA, 2011; SEIXAS, 2008).

A identificação desse complexo pode ser feita através da quimiotipagem, método descrito por KWON-CHUNG e colaboradores (1982) e hoje o mais utilizado. Esse teste utiliza um meio a base de L-canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB). *C. gattii* é resistente a L-canavanina e utiliza a glicina como fonte de carboidrato e nitrogênio, gerando amônia, substância responsável por aumentar o pH do meio e alterar sua cor de amarelo-esverdeado para azul-cobalto e *C. neoformans* é inibido pela L-canavanina, não sendo capaz de crescer ou utilizar a glicina do meio, mantendo assim sua cor original (MELO et al., 1993; MENDES, 2009; SIDRIM; ROCHA, 2004).

### 3.2 Patogenia

Primeiramente ocorre a inalação de propágulos infectantes, possivelmente leveduras acapsuladas dessecadas e/ou basidiósporos. Logo depois, *Cryptococcus* coloniza o sistema respiratório sem apresentar dano. No entanto, ele pode desencadear um processo infeccioso, que é detectado pelos macrófagos alveolares, dando início assim a uma reação inflamatória granulomatosa com liberação de citocinas, mediada por linfócitos T helper (CD4) e linfócitos T citotóxicos (CD8), células natural killer (NK), neutrófilos, eosinófilos e as citocinas fator de necrose tumoral alfa (TNF  $\alpha$ ), interleucina 12 (IL-12), interleucina 18 (IL-18) e interferon gama (IFN- $\gamma$ ) (PASA, 2011; PINTO, 2010).

O sítio primário é geralmente o pulmão e este processo infeccioso normalmente se comporta de forma assintomática, podendo posteriormente ser eliminado ou permanecer de forma latente, e ser reativado diante de um quadro de imunossupressão. Ao se reativar, este microrganismo poder-se-á disseminar, onde 10% dos casos ocorrem por via hematogênica, causando infecções localizadas em pele, olhos, miocárdio, ossos, articulações, pulmão, próstata, sistema urinário e SNC, sendo este último a sua predileção (PINTO, 2010; SOUZA et al., 2006).

Nos pulmões de pacientes imunocompetentes *Cryptococcus* spp. pode causar infiltrado que tende a cura espontânea, mas em alguns, cerca de 18%, se não for tratado evolui para uma disseminação. Os pacientes que apresenta doença de base (AIDS, linfoma de Hodgkin, diabetes melito, etc.), ou seja, pacientes com sistema imune debilitado, devem ser tratados o mais rápido possível, pois do contrário ocorre disseminação (KERN; BLEVINS, 1999). Alguns autores acreditam que no primeiro caso, a manifestação pulmonar é exuberante, com tratamento satisfatório e de bom prognóstico. Já em imunocomprometidos, o quadro clínico é generalizado, sem resposta satisfatória ao tratamento clássico, e geralmente apresenta uma evolução fatal (BIVANCO et al., 2006).

Diversos estudos de casos clínicos observaram que 50% dos pacientes já apresentam no início da infecção o acometimento do SNC, causando meningoencefalite (GUEVARA-CAMPOS et al., 2008).

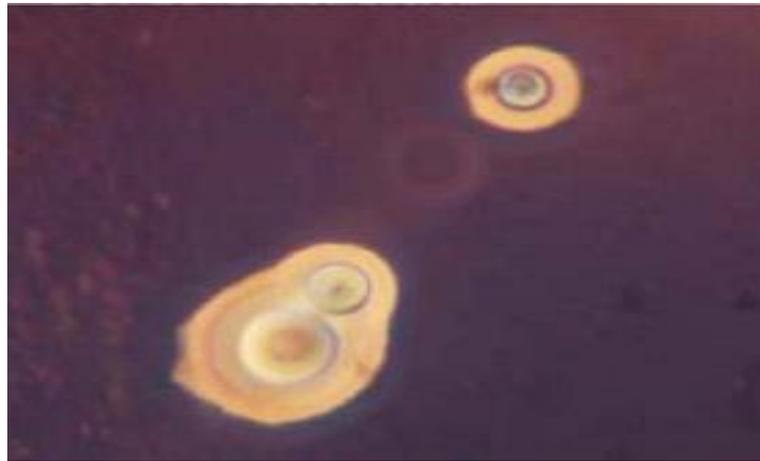
Ainda não se sabe ao certo a que se deve esse neurotropismo, mas já se fala em três possíveis hipóteses. A primeira diz que se deve ao fato do SNC possuir substratos específicos para o crescimento e proliferação do fungo. Esses substratos são catecolaminas (dopamina, noradrenalina e adrenalina), substâncias difenólicas utilizadas por este fungo para produção de melanina (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008; GUEVARA-CAMPOS et al., 2008; PINTO, 2010).

A segunda defende que o SNC funciona como local de fuga à vigilância imunológica do hospedeiro, pois o cérebro e a barreira hematoencefálica não apresentam uma resposta imune vigorosa (PINTO, 2010). Nesse sentido, existem estudos experimentais que relatam a diminuição da eficácia do linfócito T no tecido cerebral quando comparados com outros órgãos, como o pulmão. Existindo também um atraso no desenvolvimento da resposta inflamatória no tecido cerebral (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008).

E a terceira acredita que os neurônios tenham receptores específicos que podem atrair *Cryptococcus* de forma mais eficiente do que células de outros órgãos (PINTO, 2010).

### 3.3 Agentes Etiológicos

*C. neoformans* e *C. gattii* apresentam reprodução sexuada e assexuada. O estado sexuada é caracterizado pela presença de basidiósporos e não tem sido evidenciado na clínica. O estado assexuada (Figura 1), descrito veemente na clínica, é representado por leveduras globosas ou ovaladas, com 3 a 8µm de diâmetro, brotamento único ou múltiplo, de colo estreito e envolvido por uma cápsula de mucopolissacarídeos (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008; SIDRIM; ROCHA, 2004).



**Figura 1:** Imagem microscópica de *Cryptococcus* corado pela tinta nanquim.  
Fonte: (Consenso em criptococose, 2008)

Em cultivo no Agar Sabouraud Dextrose (ASD) (Figura 2), cresce após três dias (à temperatura de 25°C a 37°C), apresentando colônia de cor branca a creme, brilhante, mucoide, com margem lisa e inteira. Já no Agar níger (Figura 3), essas colônias se apresentam de cor marrom, pois esses agentes são capazes de produzir melanina, pigmento escuro responsável por essa coloração (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008).



**Figura 2:** Cultivo de *C. neoformans* em ASD  
Fonte: (FARIA, 2010)



**Figura 3:** Cultivo de *C. neoformans* e *C. gattii*  
em agar níger  
Fonte: (PASA, 2011)

Estudos de tipagem molecular dos agentes da criptococose têm utilizado diferentes métodos em amplas séries de isolados de origem humana, animal e ambiental, como PCR fingerprinting (RAPD-PCR com iniciador M13) e RFLP do gene *URA5* segundo Meyer e colaboradores(2009) e AFLP (Amplified fragment length polymorphism), segundo Boekhout e colaboradores(2001). Comparados, estes dois métodos mostram correspondência entre si bem como relação com sorotipos: *C. neoformans* (VN1/AFLP1, sorotipo A; VNII/AFLP1A, sorotipo A; VNIII/AFLP3, sorotipo AD; VNIV/AFLP2, sorotipo D); *C. gattii* (VG1/AFLP4, sorotipo B; VGII/AFLP6 sorotipo B, VGIII/AFLP5, sorotipo B; VGIV/AFLP7, sorotipo C (KIDD et al., 2004). Foi então determinado que a técnica de MLST, utilizando os genes *CAP59*, *GPD1*, *LAC1*, *PLB1*, *SOD1*, *URA5* e a região IGS1, seria a metodologia utilizada globalmente na genotipagem de *C. neoformans* e *C. gattii*, por seu alto poder discriminatório e pela boa reprodutibilidade em diferentes laboratórios (MEYER et al., 2009).

### 3.4 Fatores de Virulência

Os principais fatores de virulência do *Cryptococcus* são a presença de uma cápsula de polissacarídeos, a produção de melanina e a capacidade de se reproduzir na temperatura corporal de 37°C (GUEVARA-CAMPOS et al., 2008).

A cápsula é o principal fator, pois seus polissacarídeos são responsáveis por inibir a fagocitose, consumir o sistema complemento, adsorver e neutralizar opsoninas e anticorpos

protetores, podendo ainda inibir a migração leucocitária, induzir o espalhamento de L-selectina, promover edema cerebral e desregulação na produção de citocinas (BIVANCO et al., 2006; MENDES, 2009).

A melanina é uma substância produzida pela ação da enzima lacase sobre compostos fenólicos. Funciona como um antioxidante, protegendo o fungo da defesa oxidativa do hospedeiro, sendo também responsável por protegê-lo dos raios ultravioletas provenientes da luz solar e dificultar a farmacoterapia antifúngica (AMARO, 2006; MENDES, 2009). Para Melo e colaboradores (1993), a melanina é um polímero inerte, resistente à ação enzimática, não reconhecida por anticorpos.

Em condições fisiológicas, *C. neoformans* mantém sua curva de crescimento a 38-39°C e perde a viabilidade a 40°C, após 24h e *C. gattii*, possui um limite de 35°C e perde a viabilidade a 37°C (MENDES, 2009).

Outros fatores de virulência são relatados como a produção de manitol e prostaglandinas, fosfolipases, proteases, urease, Mating type, calcineurina, AMPc (monofosfato cíclico de adenosina), superóxido e dismutase (AMARO, 2006; PASA, 2011).

### 3.5 Ecologia

*C. neoformans* apresenta distribuição cosmopolita e está presente em diversos habitats, como frutos, leite e fezes de seres humanos (KERN; BLEVINS, 1999), madeira em decomposição, ambiente de morcego, detritos de vegetais, oco de árvores, insetos e diversas aves, principalmente em excretas de pombos, pois suas fezes são ricas em compostos nitrogenados (ureia e creatinina), responsáveis por favorecer sua sobrevivência e multiplicação (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008; MENDES, 2009; PASA, 2011). Além de permitir sua sobrevivência, estes substratos favorecem a formação de microfocos em centros urbanos, tornando cotidiana a exposição humana a esse patógeno, como por exemplo, sua presença na poeira doméstica (BRASIL, 2012).

Esse agente resiste à dessecação, ea umidade excessiva restringe sua multiplicação. Sobrevive bem quando não está exposto diretamente a luz solar e quando está protegido de altas temperaturas, por isso que não causa infecção em aves, pois estas apresentam uma temperatura orgânica de 42°C (MENDES, 2009; PASA, 2011).

*C. gattii* é documentado como prevalente de áreas tropicais e subtropicais, no entanto, estes estudos se restringiam a regiões com esse clima. Sendo assim, recentes pesquisas têm demonstrado que este fungo também apresenta distribuição cosmopolita, pois o mesmo vem sendo isolado de áreas de clima temperado, como foi o caso do surto em Vancouver (Canadá) (MENDES, 2009; PASA, 2011).

O habitat natural de *C. gattii* foi inicialmente associado a restos vegetais de *E. camaldulensis* na Austrália (ELLIS; PFEIFFER, 1990). Mas, essa associação específica entre *C. gattii* e eucaliptos já não cabe, frente aos achados que se seguiram. No Brasil, *C. gattii* foi encontrado em árvores tropicais como cássia, oiti, ficus, mulungu, “guetarda” (FORTES, 2001; LAZÉRA et al., 1998; LAZÉRA et al., 2000). Na Colômbia, em algodoeiro de praia (CALLEJAS et al., 1998), no Canadá em árvores como elmo, cedro, pinheiro e carvalho, mas não encontrado em eucalipto (KIDD et al., 2004). Portanto, não há habitat ou associação específica de *C. gattii* com árvores-hospedeiras, mas sim, padrões geográficos de ocorrência do fungo em madeira em decomposição, substrato cujas espécies, *C. gattii* e *C. neoformans* podem estar presentes em diferentes concentrações, pois segundo o Ministério da Saúde (2012), apesar das divergências entre essas duas espécies, ambas podem ocorrer isoladamente ou simultaneamente em um só habitat natural, relacionado com processos de decomposição da madeira.

No Brasil, estudos clínicoepidemiológicos mostram a importância da criptococose por *C. gattii* do SNC em adultos jovens de ambos os sexos e crianças nas regiões N e NE, com letalidade que varia entre 35% a 50% (CAVALCANTI, 1995; CORRÊA et al., 1999; NISHIKAWA et al., 2003; OLIVEIRA, 2004). Surto em animais foram descritos como pneumonia em cabras na Espanha (BARÓ et al., 1998) e forma disseminada em psitacídeos de diferentes espécies em aviário no interior de São Paulo (RASO et al., 2004). O maior surto foi registrado na ilha de Vancouver, Canadá, atingindo 38 casos humanos, entre 1999 e 2001, a maioria imunocompetente, sendo 58% do sexo masculino, 72% com lesão pulmonar, 26% com lesão de SNC e letalidade em torno de 10%. A micose foi também diagnosticada em 45 animais: 18 gatos, 17 cães, 6 golfinhos (*Phocoenidae dalli*), 2 furões e 2 lhamas (KIDD et al., 2004).

### **3.6 Aspectos Epidemiológicos**

A criptococose é uma micose de alcance mundial e está relacionada principalmente com habitats de pombos em ambientes urbanos, o que torna a exposição humana um evento cotidiano (SIDRIM; ROCHA, 2004). Segundo Kern & Blevins (1999), aproximadamente 20% dos criadores de pombo sem antecedentes infecciosos são portadores de anticorpos anti-Cryptococcus.

Ainda não se sabe sua totalidade mundial, mas é sabido que sua incidência e prevalência têm aumentado significativamente com o surgimento dos transplantes e da AIDS, sendo esta última causada principalmente pelo *C. neoformans* (MENDES, 2009), como mostra o estudo desenvolvido por Fernandes e colaboradores (2000) no Hospital de Doenças Tropicais de Goiânia, onde dos 50 pacientes com AIDS e neurocriptococose, 47 deles estavam infectados com *C. neoformans*.

A criptococose meníngea é a infecção fúngica mais comum no SNC, sendo também considerada a terceira principal complicação neurológica em pacientes HIV positivo (PINTO, 2010).

A associação dessa enfermidade com a AIDS apresenta uma taxa de letalidade bastante elevada, variando de 33% a 62,5%. Mas, com a introdução da terapia antirretroviral e esquemas profiláticos com antifúngicos, ocorreu uma redução dessa infecção em portadores de HIV. Esta infecção também acomete pacientes HIV negativos, como por exemplo, transplantados, portadores de doenças autoimunes e portadores de malignidades, sendo que nessas casos a taxa de letalidade varia de 24,2% a 42% (PASA, 2011).

Segundo Pasa (2011) esta infecção ocorre com maior frequência em indivíduos do gênero masculino, algo em torno de 78%, sendo principalmente adultos. Contudo, crianças também são infectadas, como é o caso em áreas endêmicas (Norte e Nordeste do Brasil) (CAVALCANTI, 1995; CORRÊA et al., 1999; NISHIKAWA et al., 2003; OLIVEIRA, 2004). Segundo o consenso em criptococose (2008) a maior casuística desta infecção em crianças imunocompetentes foi relatada na região norte, no Estado do Pará. Guevara-Campos e colaboradores (2008) relataram a presença de meningoencefalite em duas crianças na Venezuela, sendo uma menina de sete anos e um menino de 11 anos de idade.

A doença já foi relatada em diversos estados do Brasil como Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Roraima, Amazonas, Piauí, Maranhão, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Rio Grande do Sul, sendo *C. neoformans* prevalente nos estados do Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul e *C. gattii* endêmico no Pará, Maranhão, Piauí e outros estados nordestinos, provocando doença em indivíduos imunocompetentes (AMARO, 2006; MENDES, 2009).

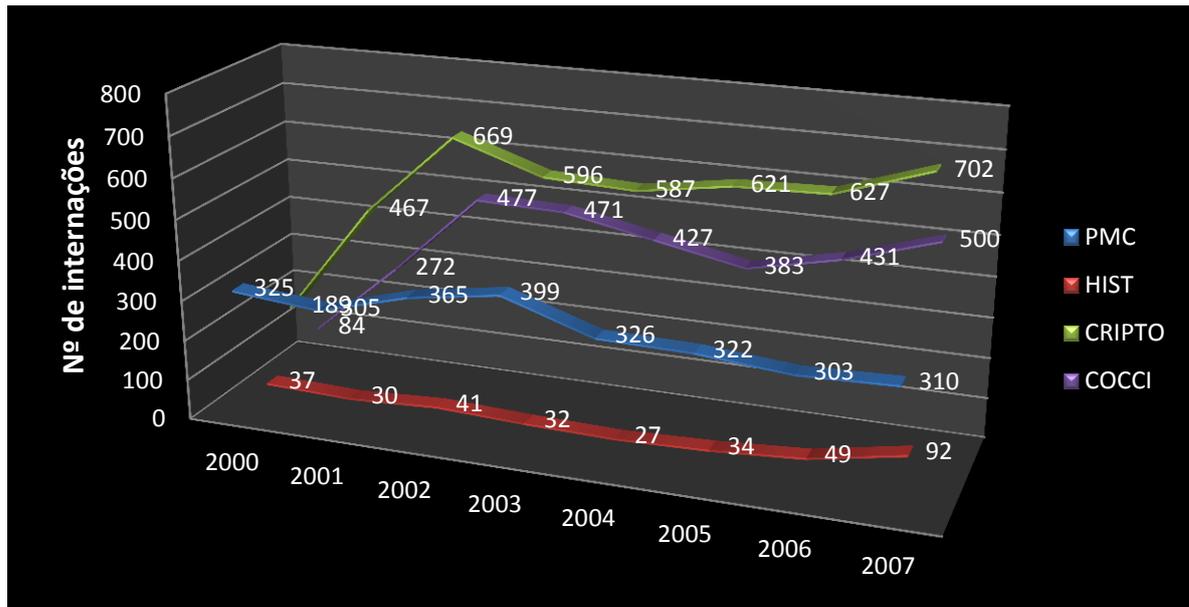
*C. neoformans* apresenta características epidemiológicas divergente de *C. gattii*, pois o mesmo tem caráter oportunista e é mais frequentemente isolado. *C. gattii* se comporta como patógeno primário em imunocompetentes, sendo menos virulento (GUEVARA-CAMPOS et al., 2008; PASA, 2011). Entretanto, o consenso em criptococose (2008) adverte que em áreas endêmicas por *C. gattii* observa-se significativa associação deste patógeno com a AIDS, e por outro lado, *C. neoformans* podendo causar infecção fatal em pessoas aparentemente normais.

Sendo assim, são reconhecidos dois quadros clínicoepidemiológicos distintos e predominantes: 1- criptococose por *C. neoformans*, infecção oportunista, cosmopolita, associada a condições de imunodepressão celular, como a AIDS; 2- criptococose por *C. gattii*, endêmica em áreas tropicais e subtropicais, que atinge indivíduos imunocompetentes, similar a outras micoses sistêmicas. No entanto, ocorrem outras formas clínicas com variação de etiologia, como por exemplo, infecção fatal por *C. neoformans* em imunocompetentes ou infecção por *C. gattii* em pacientes com AIDS (KWON-CHUNG; BENNETT, 1992; LAZÉRA et al., 2000).

*C. neoformans* variação *grubii* (sorotipo A) é o que apresenta maior distribuição mundial, já a variedade *neoformans* (sorotipo D) predomina em locais de clima temperado. *C. gattii* é relatado principalmente em países de clima tropical e subtropical, especialmente Austrália, Índia, Sudeste da Ásia, partes da África, México, Brasil, Paraguai e Sul da Califórnia, sendo o sorotipo B mais prevalente que o C (AMARO, 2006).

No Brasil, a diversidade genotípica do *Cryptococcus* spp. é distribuída em *C. neoformans* var. *grubii* sorotipo A (65%), *C. neoformans* var. *neoformans* sorotipos D (9%) e AD (5%), e *C. gattii* sorotipos B (17,5%) e C (3,5%) (MENDES, 2009).

Segundo o Sistema de Internação Hospitalar do SUS (2012), a criptococose é a micose sistêmica que mais causou internações no período de 2000 a 2007 (Figura 4) (BRASIL, 2012).



**Figura 4:** Gráfico da frequência de internações por micoses sistêmicas. Brasil, 2000-2007.  
Fonte: (adaptado do BRASIL, 2012)

Portanto, visto sua alta letalidade, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, como também sua alta prevalência e incidência, a criptococose vem sendo considerada como um problema de saúde pública. O Ministério da Saúde por meio da Secretaria de Vigilância em Saúde está implantando o Programa de vigilância e Controle das Micoses Sistêmicas, com o intuito de determinar a magnitude dessa infecção no país e fornecer um diagnóstico precoce juntamente com um esquema terapêutico adequado aos pacientes (BRASIL, 2012).

### 3.7 Manifestações Clínicas

Segundo Lacaz e colaboradores (2001), esta enfermidade se classifica de três formas: lesões tegumentares (predominantemente cutâneas), lesões viscerais (meningoencefálica e pulmonar) e lesões mistas (lesões cutaneomucosas e viscerais, associadas ou não a lesões ósteo-articulares, dos órgãos genitais e ganglionares).

A infecção no pulmão pode ser assintomática ou sintomática. Nesta última ocorre tosse, dor no peito, produção de escarro, perda de peso, febre, hemoptise e com menor frequência dispneia, suor noturno e obstrução da veia cava superior (MENDES, 2009).

Para Sidrim & Rocha (2004), existem três formas clínicas: pulmonar regressiva, pulmonar progressiva e disseminada. A criptococose pulmonar regressiva caracteriza-se por lesões primárias, com nódulos pulmonares na periferia sem calcificação. A pulmonar progressiva caracteriza-se por lesões císticas, raramente calcificadas, com sintomas inespecíficos e escassos (GAGO et al., 2011; SIDRIM; ROCHA, 2004). A forma disseminada corresponde à maioria dos casos diagnosticados (quase 90%) e sua manifestação clínica mais frequente é a meningoencefalite subaguda ou crônica (MENDES, 2009; SIDRIM; ROCHA, 2004). Contudo, podem ocorrer outras manifestações clínicas, como criptococoma, pseudocisto gelatinoso, lesões nos pares cranianos, papiledema, perda visual, hidrocefalia, massas intracerebrais e acometimento do esqueleto (BIVANCO et al., 2006; EGHWRUDJAKPOR; ALLISON, 2009).

### **3.8 Diagnóstico Clínico e Laboratorial**

O diagnóstico clínico da criptococose depende da experiência clínica do médico para detectar os sinais e sintomas desta enfermidade (PASA, 2011). Além disso, o médico não pode deixar de lado a anamnese do paciente, uma vez que a mesma traz dados importantes, como condição socioeconômica e hábitos de vida, o que podem servir para constatar ou não a possibilidade do contato direto com o agente infectante.

A criptococose é uma micose de fácil diagnóstico, pois apresenta grande quantidade de elementos fúngicos no líquido e nas lesões, presença de cápsula característica, diagnóstico imunológico e coloração tecidual específica (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008).

Quanto ao diagnóstico laboratorial, várias metodologias vem sendo utilizadas, entre elas, metodologias padrões como o exame direto com tinta da china, o cultivo em agar níger e agar CGB, o teste de hidrólise da ureia e a pesquisa de antígenos circulantes (AMARO, 2006).

O exame micológico direto do material suspeito (fluido cérebro-espinhal, tecidos, escarro, urina, raspados e aspirados de lesões cutâneas) é submetido à coloração com tinta nanquim (Tinta da China) e levado ao microscópio óptico, onde se identifica as leveduras com um nítido halo claro em torno da célula, o qual representa a cápsula não corada (AMARO, 2006; MENDES, 2009). No líquido, esse exame apresenta uma sensibilidade em torno de 80%,

especialmente nos pacientes com AIDS, e em torno de 50% nos pacientes não infectados pelo HIV (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008).

No cultivo, pode ser utilizada a maioria dos meios empregados na rotina micológica, com exceção de meios contendo cicloheximida, pois os mesmos inibem o crescimento do *Cryptococcus*. O agar níger contém várias substâncias, entre elas compostos fenólicos provenientes do extrato de *Guizotia abyssinica*, que por sua vez funcionam como substrato para fenoloxidase, enzima esta utilizada pelo *C. neoformans* e *C. gattii* na produção de melanina, substância responsável pela coloração marrom das colônias nos meios de cultura (AMARO, 2006).

O meio CGB é utilizado para diferenciação do complexo *C. neoformans* – *C. gattii* (Figura 5). No caso de *C. gattii*, ele consegue crescer neste meio, pois é resistente a L-canavanina. Seu crescimento é evidenciado pela mudança de coloração do meio, pois este microrganismo utiliza a glicina como única fonte de carboidrato e nitrogênio, e assim gerando amônia, substância responsável por alcalinizar o meio e mudar sua cor de amarelo para azul-cobalto. *C. neoformans* é inibido pela L-canavanina, não sendo capaz de crescer ou utilizar a glicina do meio, mantendo assim sua cor original (MELO et al., 1993; MENDES, 2009; SIDRIM; ROCHA, 2004).



**Figura 5:** Meio CGB diferenciando *C. gattii* (em azul) e *C. neoformans* (amarelo claro).  
Fonte: GOMES et al., 2010

A cultura é considerada padrão ouro, pois a mesma se apresenta positiva em 89% nos pacientes HIV negativos e 95% a 100% nos pacientes com AIDS (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008).

Na prova da ureia, a mesma é hidrolisada pela urease, enzima produzida pela levedura do gênero *Cryptococcus*, resultando em mudança de coloração do meio de amarelo para rosa

intenso. Essa prova também pode dar positiva para *Trichosporon* spp., *Rhodotorula* spp. e *Candidalipolytica*, no entanto, suas características bioquímicas e morfológicas são distintas do *Cryptococcus* spp. (AMARO, 2006).

A pesquisa de antígenos circulantes utilizando métodos sorológicos pode ser feita no início da infecção, pois os sintomas são escassos ou inespecíficos. As principais metodologias são os testes de aglutinação em látex e os imunoenzimáticos (PASA, 2011). Apesar da alta sensibilidade e especificidade desses métodos, podem ocorrer falsos positivos em reações cruzadas com fator reumatoide, *Trichosporon* e contaminação, podendo também ocorrer testes falsos negativos associados a baixos títulos de antígenos, presença de imunocomplexos, efeito prozona e em casos onde a infecção é constituída por leveduras acapsuladas ou com pouca cápsula (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008).

Além desses métodos padrões, existe a possibilidade do diagnóstico histológico, procedimento feito a partir de cortes de tecidos corados com Hematoxilina-Eosina (HE), para visualização dos basidiósporos de *C. neoformans* ou corados com Ácido periódico de Schiff (PAS), azul alciano ou mucicarmim de Meyer para visualização da cápsula (MENDES, 2009).

Também é importante que atrelado aos achados clínico-laboratoriais seja realizados exames de imagem, como radiografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética, pois os mesmos possibilitam que o clínico constate o tipo e a extensão da lesão (PASA, 2011).

Para o Ministério da Saúde (2010) o diagnóstico dessa enfermidade é feito de forma clínica e laboratorial, sendo sua confirmação feita pelo emprego do exame direto com tinta da china, que torna o *Cryptococcus* visível de forma encapsulada e em gemulação nos materiais clínicos. Esta técnica é consagrada para o diagnóstico das meningites criptocócicas através do exame do LCR (Líquido Cefalorraquidiano), podendo também isolar este agente da urina ou de supurações, em ágar Sabouraud. A sorologia, a histopatologia e a radiografia de tórax podem ajudar no diagnóstico, e esta última pode ser ou não utilizada para confirmação do diagnóstico (BRASIL, 2010).

### **3.9 Tratamento**

Atualmente, a farmacoterapia antifúngica teve grandes avanços, mas mesmo assim, o tratamento da criptococose é considerado muito difícil e vários esquemas terapêuticos têm sido empregados na tentativa de resolver o problema (MENDES, 2009).

O tratamento pode ser dividido em três fases, indução, consolidação e manutenção. A fase de indução tem como finalidade reduzir ou negativar a carga fúngica com período mínimo de duas semanas. Na fase de consolidação busca-se manter a negatificação e alcançar a normalização dos parâmetros clínico-laboratoriais por pelo menos oito semanas. E a fase de manutenção, também denominada de fase supressão, depende do estado imunológico do paciente e compreende um período mínimo de um ano (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008; PASA, 2011).

A farmacoterapia atual da criptococose compreende a anfotericina B e suas formulações lipídicas, flucitosina, fluconazol, itraconazol e voriconazol (PASA, 2011).

No Brasil, o SUS disponibiliza no componente básico da assistência farmacêutica o fluconazol (100mg e 150mg cápsula; 10mg/mL para suspensão oral) e itraconazol (100mg cápsula e 10mg/mL solução oral). No componente estratégico tem a anfotericina B (50mg injetável) e suas formas lipídicas (complexo lipídico 100mg e lipossomal 50mg injetáveis), fluconazol (100mg cápsula e 2mg/mL injetável) e itraconazol (100mg cápsula) (BRASIL, 2012).

A anfotericina B é um antibiótico do grupo dos poliênicos e sua atividade farmacológica depende principalmente de sua ligação com ergosterol na membrana da célula fúngica. Essa interação parece formar poros ou canais que aumentam a permeabilidade e permite o extravasamento intracelular, causando a destruição celular (GOODMAN; GILMAN, 2012).

Esta droga é considerada como terapia de escolha para o tratamento da meningite criptococócica, podendo também ser utilizada nas outras formas da criptococose, porém, essa droga apresenta diversos efeitos colaterais, entre eles, a nefrotoxicidade, fato este que limita seu uso. Mas, novas formulações lipídicas (lipossomal, dispersão coloidal e complexo lipídico) já estão disponíveis na clínica, pois as mesmas apresentam menor toxicidade (MENDES, 2009).

A flucitosina é uma pirimidina fluorada que prejudica a síntese de DNA na célula fúngica. Sua ação é seletiva para estas células, pois as células de mamíferos não tem a citosina desaminase, enzima responsável por desencadear o metabolismo da flucitosina (GOODMAN; GILMAN, 2012). O uso desse fármaco deve ser monitorado, pois o mesmo é tóxico para medula óssea. Além disso, deve ser sempre utilizado em associação com outro fármaco, pois isoladamente pode causar resistência (MENDES, 2009).

O fluconazol e o itraconazol pertencem a classe dos triazólicos, fármacos envolvidos na inibição da 14- $\alpha$ -esterol desmetilase, enzima responsável pela biossíntese do ergosterol da célula fúngica, comprometendo assim sua fluidez, estabilidade, crescimento e divisão (BRODY et al., 2006; GOODMAN; GILMAN, 2012).

O voriconazol é um triazol de última geração, com espectro de ação mais amplo, de maior potência e custo elevado. Este fármaco vem sendo utilizado na clínica em casos por *C. neoformans* e espécies de *Candida* resistente ao fluconazol (MENDES, 2009; PASA, 2011).

Na meningoencefalite, fungemia, doença disseminada e casos graves, inicia-se fase de indução com anfotericina B desoxicolato, na dose de 0,7-1,0 mg/Kg/dia, associada a flucitosina, na dose de 100mg/Kg/dia por um período mínimo de duas semanas (para HIV soropositivos), por quatro semanas (para imunocompetentes) e por seis semanas (para pacientes com criptococomas). Em seguida, a fase de consolidação com fluconazol, na dose de 400 mg/dia por no mínimo oito semanas, podendo estender de seis a dezoito meses em casos de criptococomas (PASA, 2011).

As associações medicamentosas tem mostrado sua importância, como é o caso da anfotericina B com flucitosina, associação esta que permite a diminuição da dose da anfotericina sem causar prejuízo terapêutico e consequentemente redução de seus efeitos colaterais (MENDES, 2009). Entretanto, a flucitosina foi retirada do mercado brasileiro a mais de 12 anos, sendo assim, a mesma pode ser substituída por fluconazol, na dose de 800 mg/dia, seguido pelo aumento da dose de fluconazol para 800 mg/dia na fase de consolidação ou anfotericina B por seis a dez semanas (BRASIL, 2006; PASA, 2011).

Nos transplantados, utiliza-se a anfotericina B lipossomal na dose de 3,0-4,0 mg/Kg/dia e na fase de consolidação utiliza o fluconazol na dose de até 800mg/dia. Nos casos de criptococose pulmonar utiliza-se o fluconazol, na dose de 400 mg/dia, por seis a doze meses (PASA, 2011).

Segundo o Consenso em criptococose (2008) o tratamento da criptococose pulmonar em pacientes sintomáticos deve ser sempre recomendado (Tabelas 1, 2 e 3) e nos casos assintomáticos ou oligoassintomáticos ou com nódulo ressecado, pode-se adotar uma prática não farmacológica, instituindo apenas o acompanhamento clínico e laboratorial. No entanto, sempre avaliando a possibilidade de haver disseminação para outros sítios.

**Tabela 1:** Roteiro para tratamento\* das formas pulmonares de criptococose em HIV negativo. Pacientes com pesquisa de antígeno criptocócico e cultura em LCR negativas.

Estado imunológico	Forma clínica	Tratamento	Duração	Evidência
Imunocompetente ou Imunodeprimido	leve/ moderada	fluconazol 200-400 mg/dia ou itraconazol 200-400 mg/dia ou anfotericina B 0,5-1 mg/Kg/dia	6 a 12 meses	AIII BIII BIII
	grave	tratar como meningoencefalite		

\* Em todos os casos determinar *Cryptococcus* no LCR: se a cultura ou pesquisa direta e/ou látex positivos, tratar infecção em SNC. Fonte:(Adaptado de CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008)

**Tabela 2:** Roteiro para tratamento\* das formas pulmonares de criptococose, HIV positivo ou cultura positiva de espécime respiratório, sem envolvimento do SNC.

Forma clínica	Tratamento	Duração	Evidência
leve ou moderada	fluconazol 200-400 mg/dia ou itraconazol 200-400 mg/dia	6 a 12 meses (vide observação)	AIII BIII
<b>Manutenção</b>	fluconazol 200-400 mg/dia ou itraconazol 200-400 mg/dia		CIII
Forma grave	tratar como meningoencefalite		

\* Em todos os casos determinar o *Cryptococcus* no LCR: se cultura ou pesquisa direta e/ou látex positivos: tratar como infecção em SNC. Em pacientes com AIDS e linfócitos T CD4+ > 100 a 200 células/mm<sup>3</sup> por mais de 6 meses e aderentes a TARV, pode ser considerada a suspensão da terapêutica antifúngica de manutenção (CIII).

Fonte:(Adaptado de CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008)

**Tabela 3:** Categorias indicando a força de evidência de cada recomendação

#### Categorias indicando a força de cada recomendação

- A. Boa evidência para apoiar a recomendação a favor do uso.
- B. Moderada evidência para apoiar a recomendação a favor do uso.
- C. Pobre evidência para apoiar a recomendação a favor ou contra o uso.
- C. Moderada evidência para apoiar a recomendação contra o uso.
- D. Boa evidência para apoiar a recomendação contra o uso

#### Graus indicando a qualidade da evidência na qual a recomendação foi baseada

- I. Evidência para, pelo menos, um estudo clínico controlado e randomizado.
- II. Evidência para, pelo menos, um estudo clínico bem desenhado, sem randomização.
- III. Evidência de opinião de especialistas com base na experiência clínica, estudos descritivos ou dados de comitê de especialistas.

Fonte: (Adaptado de CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008)

No acometimento neural, paciente HIV negativo ou positivo, deve ser aplicado o tratamento (Tabela 4 e 5), respectivamente em duas fases (indução e consolidação) ou três fases (indução, consolidação e manutenção).

**Tabela 4:** Tratamento em paciente HIV negativo para criptococose em sistema nervoso central.

<b>Indução</b>	<b>Consolidação</b>	<b>Evidência</b>
Anfotericina B: 0,7-1 mg/Kg/dia IV + 5-Fluocitosina: 100 mg/Kg/dia VO ÷ 4 doses, por 2 semanas	fluconazol 400 mg/dia VO por 6 a 10 semanas	BIII
Anfotericina B: 0,7-1 mg/Kg/dia IV por 6 a 10 semanas	5-Fluocitosina: 100 mg/Kg/dia VO por 6 a 10 semanas	BII
Anfotericina B: 0,7-1 mg/Kg/dia IV por 6 a 10 semanas		CI
<b>Casos refratários ou intolerância à anfotericina B</b>		
Anfotericina B lipossomal 3-6 mg/Kg/dia por 6 a 10 semanas		BII
Anfotericina B complexo lipídico 5 mg/Kg/dia (diário por 2 semanas e 3x semana por 4 semanas; dose média acumulativa = 3g)		BII

Fonte: (Adaptado de CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008)

**Tabela 5:** Pacientes HIV positivo e outras formas de imunodepressão. Tratamento da criptococose em sistema nervoso central ou doença disseminada

<b>Indução</b>	<b>Consolidação</b>	<b>Evidência</b>
Anfotericina B: 0,7-1 mg/Kg/dia IV + 5-Fluocitosina: 100 mg/Kg/dia VO ÷ 4 doses, por 2 semanas	fluconazol 400 mg/dia VO por 10 semanas	AI
<b>Esquemas alternativos</b>		
Anfotericina B: 0,7-1 mg/Kg/dia IV por 6 a 10 semanas		BII
Anfotericina B lipossomal 4-6 mg/Kg/dia por 6 a 10 semanas		BII
Anfotericina B complexo lipídico 4-5 mg/Kg/dia por 6 a 10 semanas		BII
<b>Em casos de intolerância ou impossibilidade de uso de anfotericina B e suas formulações lipídicas</b>		
Fluconazol: 800 a 1600 mg/dia + fluocitosina: 100 mg/Kg/dia ÷ 4 doses VO		BII
Fluconazol: 1600 a 2000 mg/dia por 6 a 10 semanas		
Fluconazol: 400 a 800 mg/dia por 10 a 12 semanas		CII
<b>*Manutenção 12 a 24 meses</b>		
Fluconazol: 200 a 400 mg/dia, 1x dia, VO		AI
Itraconazol: 200 mg/dia, 1x dia, VO		CI

Fluconazol deverá ser iniciado na fase de consolidação, quando paciente apresentar melhora clínica definida por: melhora do status mental, febre, cefaleia, sinais meníngeos e/ou negatificação da cultura do LCR na 2ª semana.

\* Pacientes com  $CD4^+ > 100$  a 200 células/mm<sup>3</sup> por mais de 6 meses e aderentes a TARV, recomenda-se a suspensão da terapêutica antifúngica de manutenção (BII/BIII); reiniciar a terapêutica de manutenção se  $CD4$  cair para  $< 100$  cels/mm<sup>3</sup> (CIII). Fonte: (Adaptado de CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008)

Para o Ministério da Saúde (2010), a escolha da farmacoterapia depende da forma clínica. Na criptococose disseminada o esquema terapêutico de primeira escolha é a anfotericina B, na dose de 1mg/Kg/dose, IV, não ultrapassando 50mg/dia, durante seis semanas. Em caso de toxicidade utiliza-se a formulação lipídica da anfotericina, na dose de 3 a 5 mg/Kg/dia e na fase de consolidação, utiliza-se o fluconazol, na dose de 200 a 400mg/dia, VO ou EV, por aproximadamente seis semanas, ou associado à anfotericina B, até a negatização da cultura.

Nas formas pulmonares ou com sintomas leves, utiliza-se o fluconazol, na dose de 200 mg/dia, por seis a doze meses, ou o itraconazol, na dose de 200 mg/dia, por seis a doze meses (BRASIL, 2010).

Mesmo em tratamentos eficazes é comum o advento de recidivas, e quando se trata de pacientes com AIDS, a média de sobrevida desses pacientes após o diagnóstico de criptococose é de apenas seis meses (KERN; BLEVINS, 1999).

A maioria dos isolados clínicos de *C. neoformans* é susceptível ao fluconazol e ao itraconazol e cerca de 50% dos isolados é resistente a flucitosina. Alguns estudos brasileiros já demonstraram a existência de isolados menos susceptíveis ao itraconazol e ao fluconazol (PAPPALARDO; MELHEM, 2003). De forma geral, *C. gattii* apresenta menor suscetibilidade *in vitro* do que *C. neoformans*, fato que pode estar relacionado à maior dificuldade de tratamento da criptococose causada por esta espécie (TRILLES et al., 2004).

Em virtude da dificuldade de tratamento dessa enfermidade bem como o surgimento de cepas de *C. neoformans* resistentes ao fluconazol, se faz necessário protocolos terapêuticos (MENDES, 2009).

### **3.10 Controle e Profilaxia**

A cura para pacientes aidéticos com neurocriptococose significa controle da infecção, diminuição da mortalidade, prevenção de recidivas e manutenção da qualidade de vida (SEIXAS, 2008). Portanto, em vista da dificuldade de tratamento, bem como as consequências devastadoras da disseminação desta infecção, é de suma importância sua prevenção.

Quando se tem a identificação da infecção e sua fonte é possível traçar estratégias para reduzir ou até mesmo impedir a exposição humana nessas áreas. Uma delas se constitui em

ações de educação em saúde, prática esta que visa prestar informações a população exposta sobre a doença, sua transmissão e risco de aquisição, como também esclarecer a importância da não alimentação de pombos em praças e ambientes públicos. Além disso, é de suma importância evitar que pacientes susceptíveis tenha contato com ambientes contaminados com fezes de pássaros, principalmente de pombos (BRASIL, 2012; SEIXAS, 2008).

Outra estratégia de prevenção seria a articulação da Vigilância Epidemiológica com a Vigilância Ambiental para desenvolver ações de controle dessas aves, promover capacitações aos profissionais de saúde e alertar para o diagnóstico diferencial (BRASIL, 2012).

Além desses mecanismos não farmacológicos, existe a possibilidade do uso de antifúngicos, citados na literatura como profilaxia primária e secundária. A primária constitui na administração de fármacos antifúngicos para prevenir a ocorrência de *C. neoformans* em pacientes críticos, já a profilaxia secundária estabelece a administração desses fármacos para evitar a recorrência em pacientes que tiveram sucesso no tratamento da criptococose (CASADEVAL; PERFECT, 1998; PINNER et al., 1995).

## METODOLOGIA

---

#### 4.1 Desenho do Estudo

O estudo agregado-observacional-transversal foi baseado em dados clínicos e epidemiológicos coletados através de ficha clínica, epidemiológica e micológica (Anexo), como também de prontuários de 205 usuários imunocomprometidos ou imunocompetentes, com suspeita clínica de criptococose, os quais foram assistidos no Hospital Universitários Lauro Wanderley (1998-2012) e no Complexo Hospitalar Dr. Clementino Fraga (1998-2007), ambos na cidade de João Pessoa-PB.

O critério de inclusão foi baseado nos casos com suspeita clínica e nos com diagnóstico confirmado da enfermidade.

O estudo dos fatores de risco, gravidade da doença (localizada vs. disseminada), as manifestações clínicas, a etiologia da criptococose e os parâmetros clínicos estão vinculados à definição de caso estabelecida pelo Ministério da Saúde (2012) e adaptações, admitido por demanda espontânea:

#### 4.2 Caso Suspeito

- **Hospedeiro sem fator de risco evidente:** paciente, criança ou adulto, com uma ou mais das seguintes manifestações, durante pelo menos quatro semanas, excluída a tuberculose e outras manifestações que cursam quadro semelhante: cefaleia, diplopia, estrabismo, nativo ou habitante do estado da Paraíba.
- **Hospedeiro com fator de risco (AIDS, diabetes, tuberculose, alcoolismo, gravidez):** clínica inespecífica, imunodepressão, líquido com pouca reação inflamatória, lesão pulmonar periférica.

#### 4.3 Caso Confirmado

- **Confirmação:** paciente com manifestações clínicas compatíveis com criptococose cuja secreção, fluido corporal ou material de lesão foi observada a presença de

leveduras do complexo *C. neoformans*, por exame microscópico direto, cultura ou exame histopatológico.

#### 4.4 Doença e Resposta Clínica

- **Doença grave**, presença de um ou mais dos seguintes itens:
  - Forma disseminada (infecção de mais de um órgão ou sistema, sangue, múltiplas lesões cutâneas ou subcutâneas) sem infecção de SNC.
  - Forma disseminada com infecção de SNC (meningoencefalite com ou sem massa cerebral).
- **Doença não grave**, doença localizada (ausência de todos os itens acima, lesão restrita aos pulmões, ou lesão única, restrita e estabelecida em um só órgão, excluindo o SNC).

#### 4.5 Parâmetros Clínicos

- **Resposta clínica favorável**: cura clínica e microbiológica após tratamento.
- **Resposta clínica adversa**: permanência dos sintomas e/ou positividade microbiológica após tratamento ou óbito.

#### 4.6 Taxa de prevalência

Foi computada a partir dos dados amostrais obtidos. Os cálculos matemáticos foram obtidos dividindo o número de casos existentes pelo número de pessoas estudadas. No entanto, como o estudo foi feito com uma amostra da população, ele não apresenta 100% de certeza. Para correção da mesma, foi aplicado um teste estatístico (intervalo de confiança de 95%) (MENEZES; SANTOS, 1999).

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Bioética do Centro de Ciências da Saúde / UFPB – Protocolo nº 135/05.

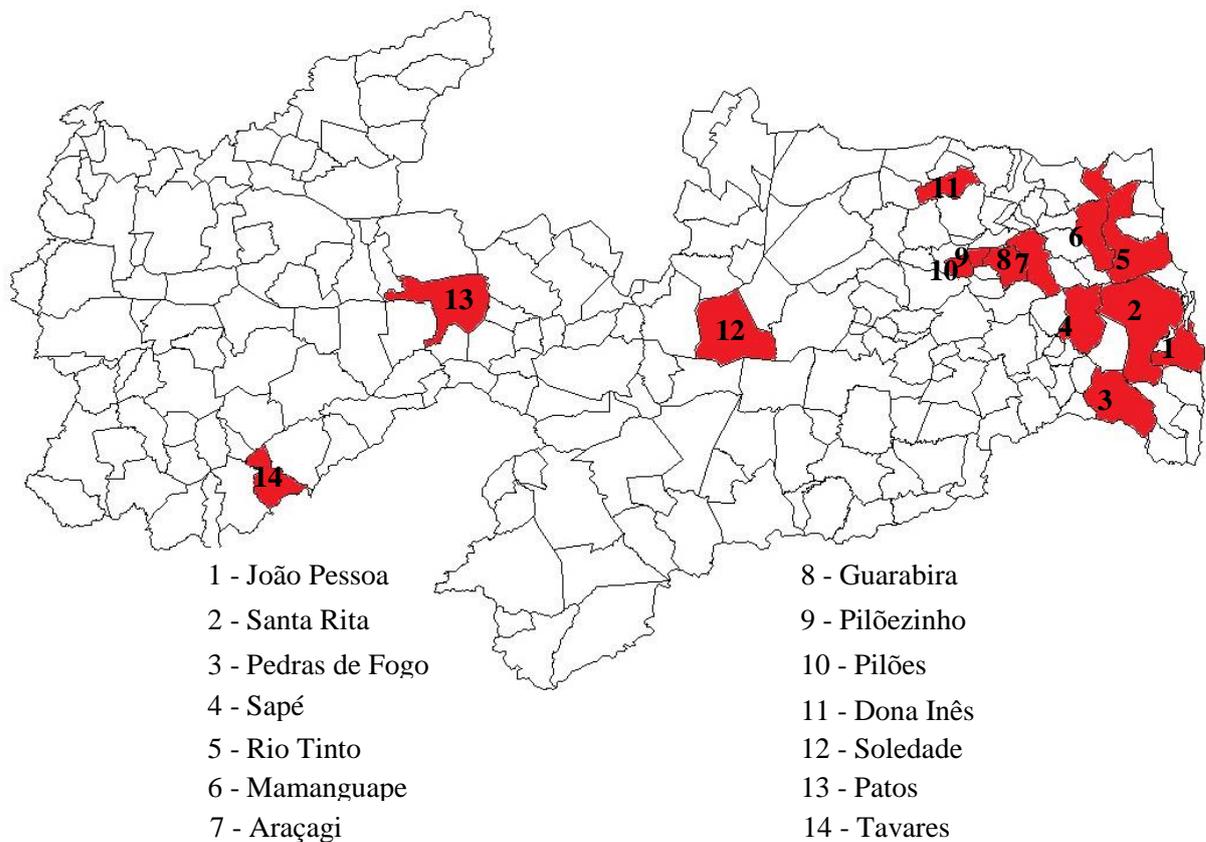
## RESULTADOS

---

No período de 1998 a 2012, foram diagnosticados 25 casos de criptococose, sendo 23 casos de neurocriptococose, 1 caso de neurocriptococose mais a forma pulmonar e 1 caso de criptococose cutânea. Destes usuários 18 foram atendidos no Hospital Universitário Lauro Wanderley/UFPB e sete no Complexo Hospitalar de Doenças Infectocontagiosas Clementino Fraga.

Os sinais e sintomas mais frequentes foram desorientação, inconsciência, febre, vômito, rigidez na nuca, cefaleia, alterações visuais e irritabilidade (múltipla resposta).

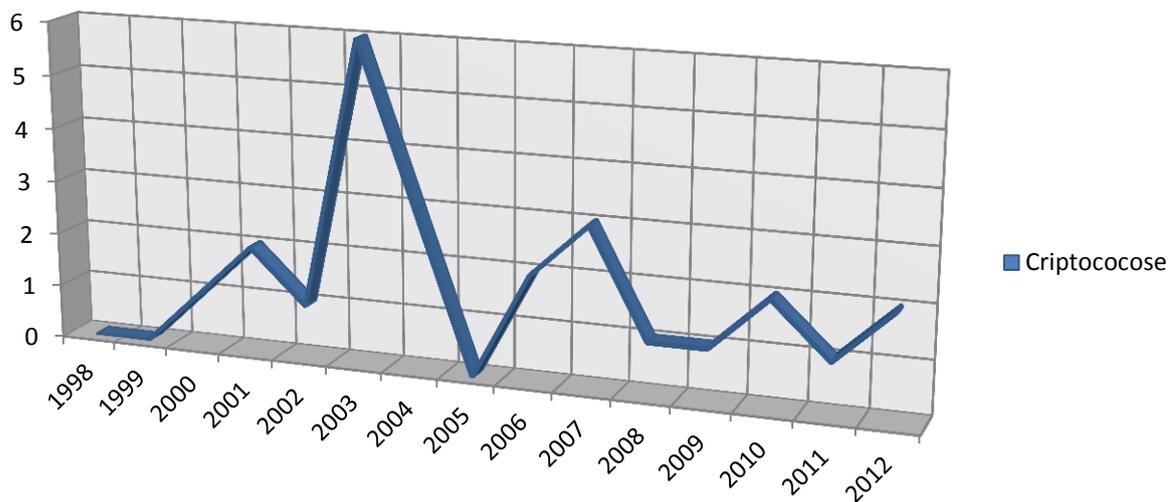
Dos casos diagnosticados 40% (10) dos pacientes habitavam a Mesorregião da Mata Paraibana, 5 casos em João Pessoa, 1 em Santa Rita, 1 em Sapé, 1 em Mamanguape, 1 em Pedras de Fogo e 1 em Rito Tinto), 24% (6) habitavam a Mesorregião do Agreste Paraibano (1 caso em Guarabira, 1 em Pilões, 1 em Pilõezinhos, 1 em Dona Inês, 1 em Araçagi e 1 em soledade) e 8% (2) habitavam a Mesorregião do Sertão Paraibano (1 caso em Patos e 1 em Tavares). Dos remanescentes, 8% (2 casos) habitavam no Estado de Pernambuco (1 caso de Brejinho e 1 de Camuntange) e para 20% (5 casos) não houve registro da procedência (Figura 6).



**Figura 6:** Distribuição da criptococose no Estado da Paraíba

\* Não houve o registro de procedência de cinco casos

A distribuição anual da micose variou de zero a seis casos, não havendo a infecção em 1998, 1999 e 2005 (Figura 7). A prevalência da criptococose foi de 12,2%, variando de 7,7% a 16,7%, com um intervalo de confiança de 95% de certeza.



**Figura 7:** Distribuição anual dos 25 casos de criptococose no período de 1998 a 2012

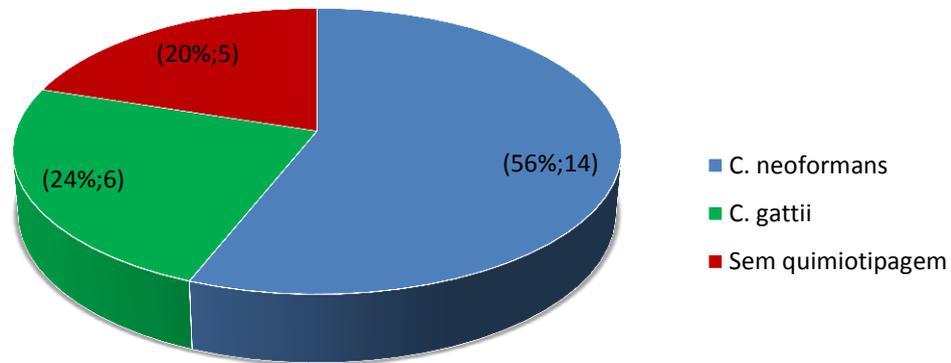
A idade dos pacientes infectados variou de 19 meses a 58 anos (média de 32,4 anos). A predominância foi do gênero masculino com 68% dos casos, sendo a faixa etária de 21 - 50 anos a mais acometida. No gênero feminino, 100% dos casos tinha idade inferior a 17 anos (Tabela 6).

**Tabela 6:** Distribuição da criptococose por faixa etária e gênero dos 25 pacientes

Faixa etária (anos)	Gênero				Total	
	Masculino		Feminino		n	%
	n	%	n	%		
0 - 10	-	-	2	8	2	8
11 - 20	-	-	3	12	3	12
21 - 30	4	16	-	-	4	16
31 - 40	6	24	-	-	6	24
41 - 50	5	20	-	-	5	20
51 - 60	2	8	-	-	2	8
Não inf.*	3	12	-	-	3	12
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>80</b>	<b>5</b>	<b>20</b>	<b>25</b>	<b>100</b>

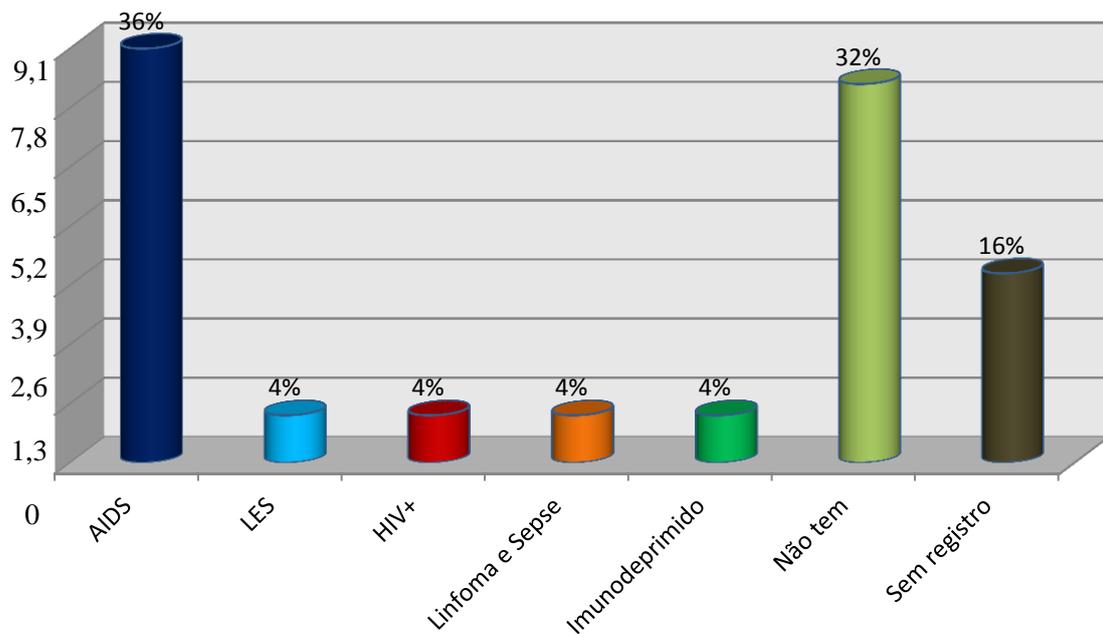
\* Não houve o registro da idade de três usuários do gênero masculino

Através da quimiopigação 56% (14) das cepas foram identificadas como *C. neoformans*, 24% (6) como *C. gattii* e 20% não puderam ser quimiopigadas (Figura 8).



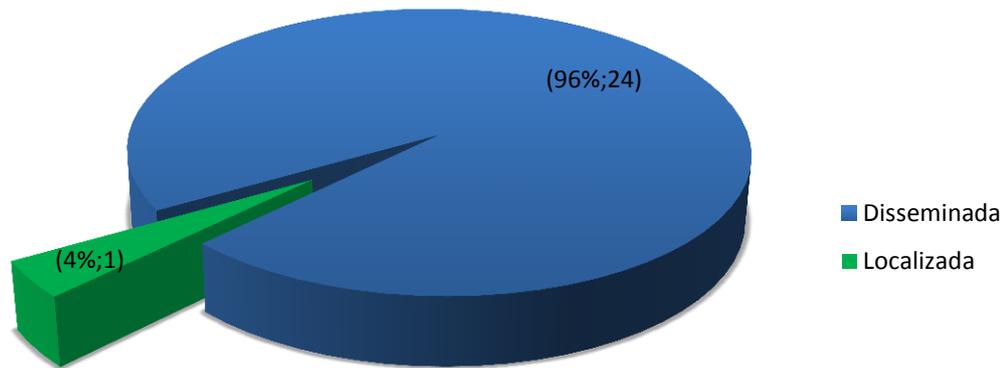
**Figura 8:** Quimiopigação das 25 cepas de leveduras do Complexo *C. neoformans-C. gattii*

Dentre os fatores de risco predisponentes, o mais prevalente foi a AIDS, representando 36% (9 casos), seguido de Lupus Eritematoso Sistêmico (LES) 4% (1), HIV+ 4% (1), linfoma + sepse 4% (1) e um de indivíduo imunodeprimido 4% (1). Do restante, 32% (8) não tinham doença de base e 16% (4) não foi possível obter tal registro (Figura 9).



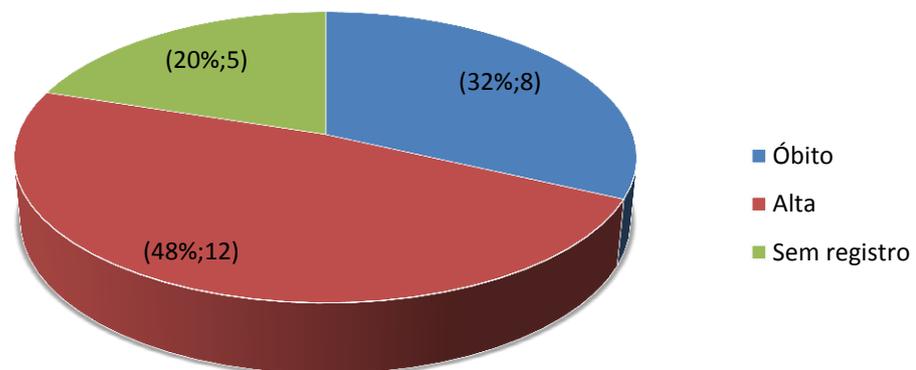
**Figura 9:** Fatores de risco relacionados aos 25 pacientes com criptococose

Quanto à gravidade da doença, 96 % (24 casos) dos pacientes apresentaram a forma clínica grave com disseminação para o SNC, tendo a meningoencefalite como principal manifestação clínica. Apenas 4% (1 caso) apresentou a forma clínica não grave, localizada, exibindo o quadro de criptococose cutânea na face (Figura 10).



**Figura 10:** Formas da criptococose nos 25 pacientes infectados

O esquema terapêutico aplicado nos pacientes baseou-se em anfotericina B desoxicolato e sua forma lipossomal, e fluconazol em concentrações variadas. Desses, 32% apresentaram resposta clínica adversa, 48% favorável e em 20% não houve registro (Figura 11).



**Figura 11:** Frequência da resposta clínica pós-tratamento dos 25 pacientes com criptococose

## DISCUSSÃO

---

A criptococose era considerada uma infecção esporádica, mas com a epidemia da AIDS, na década de 1980, passou a ter uma alta incidência, tornando-se uma das infecções oportunistas mais frequentes nesse grupo de pacientes (MAZUELOS; GARCÍA, 2010).

Ainda não se sabe a totalidade mundial dessa infecção, mas com o ingresso da terapia antirretroviral altamente ativa - HAART (DAVIS et al., 2009; MAZUELOS; GARCÍA, 2010) e com os esquemas profiláticos com antifúngicos (CASADEVVAL; PERFECT, 1998; PINNER et al., 1995) ocorreu uma redução significativa dessa infecção em portadores de HIV, no entanto, esse acometimento ainda é notável (AMARO, 2006; BAVA; NEGRONI, 1992; CHANDLER, 1985; DARZÉ et al., 2000). Além do surgimento da AIDS, a utilização de drogas imunossupressoras (OLIVEIRA et al., 2008) e o desenvolvimento de tecnologias mais específicas de diagnóstico (GAGO et al., 2011; LEAL, 2006) justificam o aumento dessa micose.

Nesse estudo, a incidência anual da criptococose mostrou-se parecida, variando de 1 a 3 casos, contudo, em 2003 a mesma apresentou uma disparidade de 6 casos. Quanto à prevalência, está diretamente relacionada com o estado imunológico do hospedeiro e com o grau de exposição ao fungo (MITCHELL; PERFECT, 1995). Sua baixa frequência identificada (12,2%), bem como a alta quantidade desse fungo na natureza, sugere que muitas pessoas são expostas, mas não desenvolvem a doença (CASADEVVAL; PERFECT, 1998).

Essa micose é causada pelo complexo *C. neoformans-C. gattii* (BARONI et al., 2006). Para discriminar a espécie responsável, existem várias metodologias, como PCR multiplex (LEAL, 2006), High-Resolution Melting (GAGO et al., 2011), sorotipagem (CARVALHO et al., 2005), quimiotipagem em meio CGB (KWON-CHUNG et al., 1982). Esta última permite separar as duas espécies do complexo e é um método tradicionalmente utilizado por vários pesquisadores (FARIA et al., 2010; FERNANES et al., 2000; GAZZONI et al., 2010; HEDAYATI et al., 2011; LUGARINI et al., 2008; SEVERO et al., 2009).

Utilizando o ágar CDB (creatinina-dextrose-azul de bromotimol), Kwon-Chung e colaboradores (1978, apud MELO et al., 1993) foram os primeiros a desenvolver uma técnica bioquímica para diferenciar as variedades do *Cryptococcus*. Salkin & Hurd (1982, apud MELO et al., 1993) desenvolveram o GCP (glicina-cicloheximida-fenol vermelho) para mesma finalidade.

Em 1982 KWON-CHUNG e colaboradores desenvolveram o CGB (L-canavanina-glicina-azul de bromotimol), meio ainda mais eficaz que o CDB e GCP, pois segundo os autores em mais de 500 amostras analisadas, nenhuma resultou em falso-positivo. No entanto,

Calvo e colaboradores (1990) realizaram um estudo com 28 isolamentos utilizando o GCP e CGB, e ambos tiveram resultados iguais na quimiotipagem.

Nesse estudo, as cepas foram quimiotipadas com o meio CGB, sendo *C. neoformans* responsável por 56% (14) dos casos de criptococose e *C. gattii* por 24% (6). Contudo, em 20% (5) dos casos não foi possível realizar a quimiotipagem. Em Campo Grande-MS, Brasil, Pasa (2011) identificou 11 casos por *C. neoformans* e 4 casos por *C. gattii* entre fevereiro de 2009 a julho de 2010. Na Argentina, *C. neoformans* foi responsável por 96,19% dos casos de criptococose (BAVA; NEGRONI,1992).

No Brasil, *C. neoformans* é a espécie mais frequente (CALVO et al., 1990; FERNANDES et al., 2000; LEAL, 2006; LINDENBERG et al., 2008; MOREIRA et al., 2006), porém na região Norte e Nordeste *C. gattii* é a mais prevalente (CORRÊA et al., 1999; DARZÉ et al., 2000). Ao contrário da literatura, nosso estudo verificou que o *C. neoformans* é a espécie mais prevalente no Estado da Paraíba.

*C. neoformans* tem caráter oportunista, associada a condições de imunodepressão celular, como a AIDS, e *C. gattii* se comporta como patógeno primário em imunocompetentes (GUEVARA-CAMPOS et al., 2008; PASA, 2011). Entretanto, ocorrem outras formas clínicas com variação de etiologia, como por exemplo, infecção fatal por *C. neoformans* em imunocompetentes ou infecção por *C. gattii* em pacientes com AIDS (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008; KWON-CHUNG; BENNETT, 1992; LAZÉRA et al., 2000). Essa heterogeneidade também foi constatada nesse estudo, *C. neoformans* foi responsável por infectar 11 pacientes imunodeprimidos e 3 imunocompetentes, já o *C. gattii* infectou 5 imunocompetentes e 1 imunodeprimido.

Pacientes com AIDS são conhecidos por ter alta susceptibilidade à infecção por *C. neoformans* (CASADEVAL; PERFECT, 1998; PASA, 2011). Nesse estudo, todos os pacientes com AIDS (9 casos) tiveram *C. neoformans* como agente etiológico, resultado também obtido por Calvo e colaboradores (1990) com 28 casos assistidos em Hospitais de São Paulo.

A criptococose foi diagnosticada em 68% dos pacientes do gênero masculino. Dados estes semelhantes a outras pesquisas (CALVO et al., 1990; DARZÉ et al., 2000; FERNANDES et al., 2000). Pasa (2011) observou 73,3% de prevalência nesse gênero de pacientes. Adultos jovens e de meia idade (FERNANDES et al., 2000) são os mais acometidos pela criptococose. Dados também confirmados pelo nosso estudo, pois a faixa etária de 21 - 50 anos foi a mais acometida. Entretanto, nos últimos anos houve um aumento da presença dessa infecção em crianças brasileiras (CAVALCANTE, 1995; KWON-CHUNG

et al., 1982), como foi o caso das áreas endêmicas do Brasil (regiões Norte e Nordeste) (CAVALCANTI, 1995; CORRÊA et al., 1999; NISHIKAWA et al., 2003; OLIVEIRA, 2004).

Nesse estudo, 20% dos casos foram diagnosticados em crianças e adolescentes do gênero feminino. Severo e colaboradores (2009) relataram 21 casos de criptococose em crianças diagnosticados pelo Laboratório de Micologia da Santa Casa Complexo Hospitalar (Porto Alegre – RS), dos quais 10 eram meninas com idade entre 0 - 16 anos. Na literatura, outros estudos também evidenciam a presença desta infecção nessa faixa etária (CORRÊA et al., 1999; EGHWRUDJAKPOR; ALLISON, 2009).

O comprometimento da resposta imune é o principal fator predisponente para a ocorrência da doença, sendo os pacientes com doenças imunodepressoras como a AIDS, neoplasias linfoproliferativas ou sarcomas, sob tratamento imunossupressor ou transplantado, os mais suscetíveis à doença (OLIVEIRA et al., 2008). Nesse estudo 36% dos casos tinham a AIDS como principal fator de risco. Darzé e colaboradores (2000) relataram que em 104 casos de meningoencefalite criptocócica, a AIDS também foi o fator de risco mais prevalente. Bava & Negroni (1992) evidenciaram 57% de um total de 105 casos e Amaro (2006) evidenciou 92,6% de 121 casos.

De acordo com o Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, o Brasil apresentou 492.581 casos de AIDS notificados no Sinan (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) no período de 1980 a junho de 2010 (BRASIL, 2010).

Então, considerando que a criptococose meníngea é a terceira principal complicação neurológica em pacientes HIV positivos (PINTO, 2010) e a segunda em pacientes com AIDS (BAVA; NEGRONI, 1992), e que a criptococose extrapulmonar faz parte da listagem de doenças indicativas de AIDS (BRASIL, 2004), se faz necessidade do aumento da vigilância nesse grupo de pacientes, para que se possa diagnosticar precocemente e/ou estabelecer medidas profiláticas e curativas adequadas, pois a associação das mesmas ainda apresenta uma taxa de letalidade bastante elevada 62,5% (MOREIRA et al., 2006), 44,5% (PASA, 2011) e 22,2% em nosso estudo.

Dentre as formas clínicas da criptococose, a disseminada é a mais prevalente, correspondendo à quase 90% da totalidade dos casos e sua manifestação clínica mais frequente é a meningoencefalite subaguda ou crônica (MENDES, 2009; SIDRIM; ROCHA, 2004). Nesse estudo foi identificada uma frequência de 96% dos casos, corroborando com a literatura. Foi também verificado a meningoencefalite como principal manifestação clínica.

Pasa (2011) identificou a forma disseminada em 80% dos casos e 20% obtiveram a forma não grave, sendo dois casos lesão cutânea primária e um caso pulmonar. Chandler (1985) verificou a predominância de neurocriptococose em 167 casos (88,4%) de 189 pacientes estudados.

Apesar de o trato respiratório ser a porta de entrada para os propágulos infectantes do *Cryptococcus* spp. (PINTO, 2010; SOUZA et al., 2006), esse estudo não apresentou nenhum caso de criptococose exclusivamente pulmonar, fato que pode estar relacionado a patogenia da mesma, pois segundo a literatura, essa forma clínica pode ocorrer de forma assintomática (PAPPALARDO; MELHEM, 2003; SIDRIM; ROCHA, 2004), podendo também desenvolver cura espontânea (KERN; BLEVINS, 1999).

Dos 25 pacientes estudados, 48% tiveram uma resposta clínica favorável, recebendo alta hospitalar. Entretanto, uma parcela significativa de 32% foi a óbito e em 20% não houve registro. Darzé e colaboradores (2000) relataram a letalidade de 42,7% dos 96 pacientes assistidos no hospital Couto Maia (Salvador – BA).

Ainda não se tem protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas definidas para tal enfermidade; entretanto, o Ministério da Saúde (2010) estabelece que em casos de criptococose disseminada, a farmacoterapia de escolha é a anfotericina B, na dose de 1mg/Kg/dose, IV, não ultrapassando 50mg/dia, durante seis semanas. Caso ocorra toxicidade, utiliza-se a formulação lipídica da anfotericina, na dose de 3 a 5 mg/Kg/dia e na fase de consolidação, utiliza-se o fluconazol, na dose de 200 a 400 mg/dia, VO ou EV, por aproximadamente seis semanas, ou associado à anfotericina B, até a negatização da cultura (BRASIL, 2010).

Atualmente, a criptococose é tratada com os seguintes fármacos: anfotericina B desoxicolato e suas formulações lipídicas, flucitosina, fluconazol, itraconazol e voriconazol (PASA, 2011). O Hospital Universitário Lauro Wanderley - UFPB padronizou a anfotericina B, anfotericina B lipossomal, fluconazol e itraconazol.

A associação da anfotericina B com flucitosina tem suas vantagens, pois permite diminuir a dose da anfotericina B sem causar prejuízo terapêutico, e ainda proporciona redução de seus efeitos colaterais (MITCHELL; PERFECT, 1995).

O Consenso de Criptococose e a Sociedade de Doenças Infecciosas da América recomendam que o tratamento da criptococose seja iniciado com anfotericina B associado à flucitosina (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008; PERFECT et al., 2010). No entanto, a COMARE (Comissão Técnica e Multidisciplinar de Atualização da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais), retirou a flucitosina da RENAME em 2006 e o parecer de

exclusão foi alicerçado em duas justificativas: a primeira é que o itraconazol apresenta eficácia para as mesmas indicações da flucitosina (infecções fúngicas graves causadas por *C. neoformans*, *Candida* spp. e algumas cepas de *Aspergillus*); e a segunda é que tal fármaco foi retirado do mercado brasileiro pelo fabricante a mais de 12 anos.

Do ponto de vista farmacológico, os azóis, dentre eles o itraconazol, são um grupo de fármacos antifúngicos que dependo da dose utilizada apresentam efeitos fungistáticos ou fungicidas (BRODY et al., 2006). No entanto, nas concentrações terapêuticas possuem efeito fungistático (SANGLARD, 2002; GOODMAN; GILMAN, 2012).

No que disrespeito ao esquema terapêutico, a primeira fase do tratamento (fase de indução), busca reduzir ou negativar a carga fúngica (CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE, 2008) e para tanto, os antifúngicos utilizados tem que ter atividade fungicida, o que não é o caso do itraconazol. Portanto, visto que a criptococose apresenta altas taxas de letalidade e morbidade, é de suma importância rever a utilização clínica da flucitosina aqui no Brasil, pois sua associação com a anfotericina B apresenta um sinergismo benéfico, fato que lhe permite ser aplicada em vários países: Espanha (BLANCH et al., 2010), Venezuela (GUEVARA-CAMPOS et al., 2008), Suíça (SANGLARD, 2002), Guiana Francesa (DEBOURGOGNE et al., 2012) e Estados Unidos (NGUYEN et al., 1995).

As micoses sistêmicas não são doenças de notificação, no entanto, a criptococose tem sido notificada como infecção oportunista quando em pacientes com AIDS ou quando da existência de surtos.

Pela grande importância que vem tendo a criptococose como problema de saúde pública, o diagnóstico da infecção, a identificação das espécies, das formas clínicas, dos fatores de risco, da distribuição geográfica e dos parâmetros clínicos poderá dar suporte às decisões na prática médica, no reconhecimento e diagnóstico diferencial nas meningites, na elaboração de protocolos clínicos e na vigilância epidemiológica em hospitais públicos da cidade de João Pessoa – PB e determinar a magnitude da infecção no país.

CONCLUSÃO

---

No período de 1998 a 2012, foram diagnosticados 25 casos de criptococose em hospitais públicos de João Pessoa - PB, sendo 23 casos de neurocriptococose, 1 caso de neurocriptococose mais a forma pulmonar e 1 caso de criptococose cutânea.

A prevalência da criptococose foi de 12,2%, variando de 7,7% a 16,7%, com um intervalo de confiança de 95% de certeza.

Os sinais e sintomas mais frequentes foram desorientação, inconsciência, febre, vômito, rigidez na nuca, cefaleia, alterações visuais e irritabilidade (múltipla resposta).

Dos casos diagnosticados 40% habitavam a Mesorregião da Mata Paraibana, 24% habitavam a Mesorregião do Agreste Paraibano e 8% habitavam a Mesorregião do Sertão Paraibano, 8% pertenciam ao Estado de Pernambuco e para 20% não houve registro da procedência.

A predominância foi do gênero masculino com 68% dos casos, sendo a faixa etária de 21 - 50 anos a mais acometida. Os 32% do gênero feminino tinha idade inferior a 17 anos.

Através da quimiotipagem com o meio CGB 56% das cepas são de *C. neoformans*, 24% de *C. gattii* e 20% não puderam ser quimiotipadas.

Dentre os fatores de risco predisponentes, 36% corresponderam a AIDS, 4% a LES, 4% a HIV+, 4% a linfoma + sepse e 4% em indivíduo imunodeprimido. Não tinham doença de base 32% dos pacientes e em 16% não foi possível obter tal registro.

Quanto à gravidade da doença, 96% pacientes apresentaram a forma grave (disseminação para o SNC), tendo a meningoencefalite como principal manifestação clínica e 4% apresentaram a forma não grave (criptococose cutânea localizada).

Dos pacientes estudados 32% apresentaram resposta clínica adversa (óbito), 48% clínica favorável (alta hospitalar) e de 20% não houve registro.

O esquema terapêutico aplicado nos pacientes baseou-se em anfotericina B e sua forma lipossomal, e fluconazol em concentrações variadas. No entanto, não foi possível

avaliar e verificar na íntegra se todos os pacientes receberam um tratamento condizente com as orientações do Ministério da Saúde, já que ainda não se tem definido um protocolo clínico específico para essa enfermidade.

A neurocriptococose era uma doença letal na maioria dos casos. Mesmo com o surgimento da anfotericina B e de outras estratégias farmacológicas, sua taxa de letalidade e recidiva ainda permanece alta.

É notória a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos, com alto poder fungicida e baixa toxicidade, bem como reavaliar o uso da flucitosina e o estabelecimento de protocolos e diretrizes terapêuticas para a criptococose.

## REFERÊNCIAS

---

ALVES, S. H. In vitro susceptibilidade to antifungal agents of clinical and enviromental *Cryptococcus neoformans* isolated in southern of Brazil. **Rev Inst Med Trop.** v.43, p. 267-270, 2001.

AMARO, M.C.O. **Caracterização de isolados clínicos de *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* quanto à susceptibilidade a fluconazol.** Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular). Universidade Federal do Rio Grande do Sul Porto Alegre, 2006.

BARÓ, T.; TORRES-RODRÍGUEZ, J. M.; DE 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. **J Clin Microbiol.** v.36, p.458-461, 1998.

BARONI, F. A.; PAULA, C. R.; SILVA, E. G.; VIANI, F. C.; RIVERA, I. N.; OLIVEIRA, M. T.; GAMBALE, W. *Cryptococcus neoformans* strains isolated from church towers in Rio de Janeiro City, RJ, Brazil. **Rev Inst Med Trop.** v.48, p.71-75, 2006.

BAVA, A. J.; NEGRONI, R. Características epidemiológicas de 105 casos de criptococosis diagnosticados en la Republica Argentina entre 1981-1990. **Rev Inst Med Trop.** v.34, p.335-340, 1992.

BIVANCO, F. C.; MACHADO, C. A.; MARTINS, E. L. Criptococose cutânea. **Arq Med ABC.** v.31, p.102-109, 2006.

BLANCH, J. J.; RODRÍGUEZ, M.; ESCRIBANO, E.; ATIENZAR, M. Meningitis criptocócica de evolución mortal en paciente inmunocompetente. **Enferm Infecc Microbiol Clin.** v.28, p.256-262, 2010.

BOEKHOUT, T.; THEELEN, B.; DIAZ, M. Hybrids genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. **Microbiol.** v.147, p.891-907, 2001.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de Bolso: Doenças Infecciosas e Parasitárias.** Brasília-DF, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais.** Brasília-DF, 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais 2006: parecer de exclusão.** Brasília-DF, 2006.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vigilância e epidemiologia da criptococose.** Brasília-DF, 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim epidemiológico - AIDS e DST (ano VII nº 01).** Brasília-DF, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Crítérios de definição de casos de AIDS em adultos e crianças.** Brasília-DF, 2004.

BRODY, T. M.; LARNER, J.; MINNEMAN, K. P.; WECKER, L. **Farmacologia Humana**. 4<sup>a</sup> ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2006.

CALLEJAS, A.; ORDOÑEZ, N.; RODRIGUEZ, M. C.; CASTAÑEDA, E. First isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*, serotype C, from the environment in Colombia. **Med Mycol**. v.36, p.341-344, 1998.

CALVO, B.; FISCHMAN, O.; PIGNATARI, A.; DELBIANCO, R.; ZAROR, L. Variedades y serotipos de *Cryptococcus neoformans* em pacientes com SIDA y neurocriptococosis em São Paulo, Brasil. **Rev Ins Med Trop**. v.32, p.480-482, 1990.

CARVALHO, V. G.; TERCETI, M. S.; DIAS, A. L. T.; PAULA, C. C. R.; SIQUEIRA, A. M. FRANCO, M. C. Comparação da sorotipagem de isolados ambientais de *Cryptococcus neoformans* obtida por método bioquímico e molecular. **51º Congresso Brasileiro de Genética**, São Palulo, 2005.

CASADEVAL, A.; PERFECT, J. R. *Cryptococcus neoformans*. Washington, DC: **Amer Soc Microb**. p.541, 1998.

CAVALCANTI, M. A. S. **Criptococose e seu agente no Meio Norte, estados do Piauí e Maranhão, Brasil**. Tese de Doutorado, Fundação Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro) e Universidade Federal do Piauí (Teresina), 1995.

CHANDLER, F. W. Pathology of the micosys in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). 1985.

CHAVES, E.; LOPES, A. Q.; SILVA, M. P.; SILVA, J. A. G. Pulmonary and meningeal cryptococosis complicated with lung schistosomiasis. **Rev Inst Med Trop**. v.14, p.222, 1972.

CONSENSO EM CRIPTOCOCOSE. **Rev Soc Bras Med Trop**. v.41, p.524-544, 2008.

CORRÊA, M. P. S. C.; OLIVEIRA, E. C.; DUARTE, R. R. B. S.; PARDAL, P. P. O.; OLIVEIRA, F. M.; SEVERO, L. C. Cryptococcosis in children in the State of Pará, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**. v.32, p.505-508, 1999.

CORRÊA, M. P. S. C.; SEVERO, L. C.; OLIVEIRA, F. M.; IRION, K.; LONDERO, A. T. The spectrum of compu-terized tomography (CT) findings in central nervous system (CNS) infection due to *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in immunocompetent children. **Rev Inst Med Trop**. v.44, p.283-287, 2002.

DARZÉ, C.; LUCENA, R.; GOMES, I.; MELO, A. Características clínicas laboratoriais de 104 casos de meningoencefalite criptocócica. **Rev Soc Bras Med Trop**. v.33, p.21-26, 2000.

DARZÉ, C.; LUCENA, R.; GOMES, I.; MELO, A. Fatores prognósticos da meningoencefalite criptocócica. **Arq Nero-Psq**. v. 37, 1999.

DAVIS, J. A.; HORN, D. L.; MARR, K. A.; FISHMAN, J. A. Central nervous system involvement in cryptococcal infection in individuals after solid organ transplantation or with AIDS. **Transpl Infect Dis**. v.11, p.432-437, 2009.

DEBOURGOGNEA, A.; HAGENC, F.; ELENGA, N.; LONG, L.; BLANCHET, D.; VERON, V.; LORTHOLARY, O.; CARME, B.; AZNAR, C. Successful treatment of *Cryptococcus gattii* neurocryptococcosis in a 5-year-old immunocompetent child from the French Guiana Amazon region. **Rev Iberoam Micol.** v.4, p.210–213, 2012.

DELGADO, A. C. N. Human cryptococcosis relationship of environmental and clinical strains of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* from urban and rural areas. **Mycopathologia.** v.159, p.7-11, 2005.

DINIZ R. S. Criptococose: revisão sistemática dos casos ocorridos no Brasil entre 1995-2005. **R Ci Med Biol.** v.4, p.236-241, 2005.

EGHWRUDJAKPOR, O. P.; ALLISON, A. B. Neurocryptococcosis in a 10-year-old immunocompetent girl. **Acta Neurochir.** v.151, p.711–712, 2009.

ELLIS, D. H.; PFEIFFER, T. J. Ecology, life cycle and infectious propagule of *Cryptococcus neoformans*. **Lancet.** v.336, p.923-925, 1990.

FARIA, R. O. **Avaliação da terapia  $\beta(1-3)$  glucana associada ao fluconazol na criptococose experimental.** Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

FARIA, R. O.; NASCENTE, P. S.; MEINERZ, A. R. M.; CLEFF, M. B.; ANTUNES, T. A.; SILVEIRA, E. S.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A.; MELLO, J. R. B. Ocorrência de *Cryptococcus neoformans* em excretas de pombos na Cidade de Pelotas, Estado do Rio Grande do Sul. **Rev Soc Bras Med Trop.** v.43, p.198-200, 2010.

FERNANDES, O. F. L.; COSTA, T. R.; COSTA, M. R.; SOARES, A. J.; PEREIRA, A. J. S. C.; SILVA, M. R. R. *Cryptococcus neoformans* isolados de pacientes com AIDS. **Rev Soc Bras Med Trop.** v.33, p.75-78, jan-fev, 2000.

FILIÚ, W. F. O.; WANKE, B.; AGUENA, S. M.; MACEDO, R. C. L.; LAZÉRA, M. S. Cativeiro de aves como fonte de *Cryptococcus neoformans* na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop.** v.35, p.591 – 595, 2002.

FORTES, S. T. **Fontes sapróbias e sexualidade de isolados clínicos e ambiental de *Cryptococcus (Filobasidiella) neoformans* do estado de Roraima – Brasil.** Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz. Tese de Doutorado, 2001.

GAGO, S.; ZARAGOZA, O.; CUESTA, I.; TUDELA-RODRÍGUEZ, J. L.; CUENCA-ESTRELLA, M.; BUITRAGO, M. J. High-Resolution Melting Analysis for Identification of the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* Complex. **Journal of Clinical Microbiology.** v.49, p.3663-3666, 2011.

GAZZONI, A. F.; OLIVEIRA, F. M.; SALLES, E. F.; MAYAYO, E.; GUARRO, J.; CAPILLA, J.; SEVERO, L. C. unusual morphologies of *Cryptococcus spp.* in tissue specimens: report of 10 cases. **Rev Inst Med Trop.** v.3, p.145-149, 2010.

GOMES, F. S.; SARMENTO, D. N.; SANTO, E. P. T. E.; SILVA, S. H. M. Quimiotipagem e caracterização fenotípica de *Cryptococcus* **Rev Pan-Amaz Saúde.** vol.1, p.43-49, 2010.

GOODMAN & GILMAN. **The pharmacological basis of therapeutics**. 12<sup>a</sup> ed. Artmed, 2012.

GUEVARA-CAMPOS, J.; GONZÁLEZ-GUEVARA, L.; URBÁEZ-CANO, J.; FERMÍN, S. Meningoencefalitis por *Cryptococcus neoformans* em escolares imunocompetentes. 2008.

KIDD, S. E.; HAGEN, F.; TSCHARKE, R. L.; HUYNH, M.; BARTLETT, K. H.; FYFE, M.; MACDOUGALL, L.; BOEKHOUT, T.; KWON-CHUNG, K. J.; MEYER, W. A rare genotype of *Cryptococcus gattii* caused the cryptococcosis outbreak on Vancouver Island (British Columbia, Canada). **PNAS**.v.101, p.17258-17263, 2004.

HEDAYATI, M. T.; MAYAHI, S.; FAKHAR, M.; SHOKOHI, T.; MAJIDI, M. *Cryptococcus neoformans* isolation from swallow (*Hirundo rustica*) excreta in iran. **Rev Inst Med Trop**. v.3, p.125-127, 2011.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. Cryptococcosis. *In: Medical Mycology*. Philadelphia: Lea & Febiger, p.397-446, 1992.

KWON-CHUNG, K. J.; POLACHECK, I.; BENNETT, J. E. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). **J clin Microbiol**. v.15, p.535-537, 1982.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. C.; HEINS-VACCARI, E. M.; MELO, N. T. **Tratado de micologia médica Lacaz**. 9.ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LAZÉRA, M. S.; CAVALCANTI, M. A. S.; LONDERO, A. T.; TRILLES, L.; NISHIKAWA, M. M.; WANKE, B. Possible primary ecological niche of *Cryptococcus neoformans*. **Med Micol**.v.38, p.379-383, 2000.

LAZÉRA, M. S.; CAVALCANTI, M. A. S.; TRILLES, L.; NISHIKAWA, M. M.; WANKE, B. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in a pottery tree hollow - evidence for a natural habitat related to decaying wood. **J Med Vet Mycol**.v.36, p.119-122, 1998.

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**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

LINDENBERG, A. S. C.; HANG, M.R.; PANIAGO, A. M. M.; LAZÉRA, M. S.; MONCADA, P. M. F.; BONFIM, G. F. Clinical and epidemiological features of 123 cases of cryptococcosis in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Rev Inst Med Trop**. v.2, p.75-78, 2008.

LUGARINI, C.; GOEBEL, C. S.; CONDAS, L. A. Z.; MURO, M. D.; FARIAS, M. R.; FERREIRA, F. M.; VAINSTEIN, M. H. *Cryptococcus neoformans* isolated from passerine and psittacine bird excreta in the state of Paraná, Brazil. **Mycopathologia**.v.166, p.61-69, 2008.

MAZUELOS, E.M.; GARCÍA, A.I.A. Aspectos microbiológicos de la criptococosis en la era post-TARGA. **Enferm Infecc Microbiol Clin**. v.28, p.40-45, 2010.

MELO, N. T.; LACAZ, C. S.; CILARBEL, C. E.; PEREIRA, A. D.; HEINS-VACCARI, E. M.; FRANÇA-NETTO, A. S.; MACHADO, L. R.; LIVRAMENTO, J. A. Quimiotipagem do *Cryptococcus neoformans*. Revisão da Literatura. Novos dados epidemiológicos sobre a criptococose. Nossa experiência com o emprego do meio de C.G.B. no estudo daquela levedura. **Rev Inst Med Trop**. v.35, p.469-478, 1993.

MENDES, F. E. S. **Correlação entre a susceptibilidade in vitro e a atividade in vivo do fluconazol em modelo murinho de infecção cerebral causada por *Cryptococcus gattii***. Dissertação (Programa de Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Vale Do Rio Doce, Governador Valadares, 2009.

MENEZES, A. M. B.; SANTOS, I. S. Curso de epidemiologia básica para pneumologistas. **J Pneumol**. v.3,1999.

MEYER, W.; ANENSEN, D. M.; BOEKHOUT, T.; COGLIATI, M.; DIAZ, M.; ESPOSTO, M. C.; FISHER, M.; GILGADO, F.; HAGEN, F.; KAOCHAROEN, S.; LITVINTSEVA, A. P.; MITCHELL, T. G.; SIMWAMI, S. P.; TRILLES, L.; VIVIANI, M. A.; KWON-CHUNG, J. Multilocus sequence typing scheme for *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. **Med Mycol**. In Press, 2009.

MITCHELL, T. G.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis in the era of AIDS--100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. **Clinical Microbiology Reviews**.v.8, p.515-548, 1995.

MOREIRA, T. A.; FERREIRA, M. S.; RIBAS, R. M.; BORGES, A. S. Criptococose: estudo clínico-epidemiológico, laboratorial e das variedades do fungo em 96 pacientes. **Rev Soc Bras Med Trop**. v.3,p.255-258, 2006.

NGUYEN, M. H.; BARCHIESI, F.; MCGOUGH, D. A.; YU, V. L.; RINALDI, A. G. In Vitro Evaluation of Combination of Fluconazole and Flucytosine against *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. **Antimicrob Agents Chemother**.v.39, p. 1691–1695, 1995.

NISHIKAWA, M. M.; LAZÉRA, M. S.; BARBOSA, G. G.; TRILLES, L.; BALASSIANO, B. R.; MACÊDO, R. C. L.; BEZERRA, C. C. F.; PEREZ, M. A.; LEITE, P. C.; WANKE, B. Serotyping of 467 *Cryptococcus neoformans* isolates from clinical and environmental sources in Brazil: analysis of host and regional patterns. **J Clin Microbiol**.v.41, p.73 - 77, 2003.

OLIVEIRA, B. *Cryptococcus neoformans* shows a remarkable genotypic diversity in Brazil. **J Clin Microbiol**. v.42, n.3, p.1356-9, 2004.

OLIVEIRA, F.; BAZAN, C.; SOLIVA, A.; RITZ, R.; FAGUNDES, E.; CAMARGO, G.; AUGUSTO, M.; SURIAN, C.; CALDERARO, T.; PEREIRA, R. E. CRIPTOCOCOSE. **Rev Cien Elet Med Vet**.p.1679-7353, 2008.

PAPPALARDO, M. C.; MELHEM, M. S. Cryptococcosis: a review of the Brazilian experience for the disease. **Rev Inst Med Trop**. v.45, p.299-305, 2003.

PASA, C. R. **Tipagem molecular e suscetibilidade antifúngica de *Cryptococcus* isolados de pacientes em Hospital Universitário com investigação domiciliar**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento). Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2011.

PERFECT, J. R.; DISMUKES, W. E.; DROMER, F.; GOLDMAN, D. L.; GRAYBILL, J. R.; HAMILL, R. J. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis**. v.50, p.291-322, 2010.

PINNER, R. W.; HAJJEH, R. A.; POWDERLY, W. G. Prospects for preventing cryptococcosis in persons infected with human immunodeficiency virus. **Clin Infect Dis**. v.21, p.103-107, 1995.

PINTO, L.I.S. A criptococose meníngea em doentes com infecção HIV. Faculdade de Medicina do Porto. Revista Arquivos de Medicina, 2010.

RASO, T. F.; WERTHER, K.; MIRANDA, E. T.; MENDES-GIANNINI, M. J. Cryptococcosis outbreak in psittacine birds in Brazil. **Med Mycol**.v.42, p.355-362, 2004.

SALES, M. A. Criptococose pulmonar e do sistema nervoso central. **CCS**. v.4, p.13-16, 1980.

SEIXAS, A. C. N. **Criptococose – Estudo clínico, epidemiológico e microbiológico em hospitais públicos de João Pessoa, Brasil**. Monografia (Departamento de Ciências Farmacêuticas), João Pessoa, 2008.

SEVERO, C. B.; XAVIER, M. O.; GAZZONI, A. F.; SEVERO, L. C. Cryptococcosis in children. **Paediatric Respiratory Reviews**. p.166-171, 2009.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M.F.G. **Micologia Médica à luz de autores contemporâneos**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004.

SOUZA, M. B.; MELO, C. S. N.; SILVA, C. S.; SANTO, R. M.; MATAYOSHI, S. Criptococose palpebral: relato de caso. **Arq Bras Oftalmol**. v.69, p.265-267, 2006.

TRILLES, L.; FERNÁNDEZ-TORRES, B.; LAZÉRA, M. S.; WANKE, B.; GUARRO, J. In vitro antifungal susceptibility of *Cryptococcus gattii*. **J Clin Microbiol**. v.42, p.4815-4817, 2004.

KERN, M. E.; BLEVINS, K. S. **Micologia Médica: texto e atlas**. 2.ed. São Paulo: Editorial Premier, 1999.

## ANEXO

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
LABORATÓRIO DE MICOLOGIA CLÍNICA**

**PROJETO: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*: quimiopagagem e correlação com  
criptococose em hospitais públicos de João Pessoa – PB**

**FICHA CLÍNICA, EPIDEMIOLÓGICA E MICOLÓGICA**

Paciente: \_\_\_\_\_ Prontoatório: \_\_\_\_\_

Hospital e cidade de origem: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Profissão: \_\_\_\_\_

Contato com fezes de animais:  Sim  Não  Qual: \_\_\_\_\_

Habita próximo a plantações de *Eucalyptus*:  Sim  Não

Uso de antifúngicos:  Sim  Não  Qual: \_\_\_\_\_

Tempo de doença (início dos sintomas até a internação): \_\_\_\_\_

Sintomas/Forma Clínica: \_\_\_\_\_

Doença de base: \_\_\_\_\_

Material clínico: \_\_\_\_\_

Características do LCR: \_\_\_\_\_

Proteína	Leucócitos
Glicose	Linfócitos
Hemácias	Monócitos
	Neutrófilos

Diagnóstico micológico: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Ex. direto: \_\_\_\_\_

Cultura: \_\_\_\_\_

CGB (variedade de *Cryptococcus*): \_\_\_\_\_ Urease: \_\_\_\_\_

Início da terapia: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Medicação Antifúngica	Posologia e Via de administração	Efeitos colaterais	Duração e Evolução

\_\_\_\_\_  
Pesquisador responsável