

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

A CRIPTOCOCOSE EM PACIENTES COM HIV/AIDS

LUCRÉCIA DE FÁTIMA GERALDO

Belo Horizonte

2017

LUCRÉCIA DE FÁTIMA GERALDO

A CRIPTOCOCOSE EM PACIENTES COM HIV/AIDS

Trabalho de Conclusão apresentado ao
Curso de Pós-graduação em Microbiologia
da Universidade Federal de Minas Gerais
como requisito à obtenção do título
Especialista.

Aluna: Lucrécia de Fátima Geraldo

Orientadora: Prof.(a) Dr(a) Susana Johann
Co-orientadora: Ms(a). Nívea Pereira de Sá

Belo Horizonte

2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à DEUS, a minha orientadora, meu pai (in memorian), minha mãe, irmãos e vários colegas que contribuíram para a conclusão deste

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida e o amor, pelas oportunidades encaminhadas a mim e pelas pessoas que estiveram e estão presentes na minha vida.

Ao Prof(a). Dra Susana Johann pela orientação, pela oportunidade, pela disponibilidade, pela atenção e ensinamentos que foram imprescindíveis na realização deste trabalho.

A coorientadora Mestra Nívea Pereira de Sá pela coorientação e pela disponibilidade em me ajudar.

Aos colegas da especialização que de alguma forma me ajudaram e apoiaram.

Agradeço a minha colega Luciana que com sua experiência contribuiu e muito para realização deste trabalho.

Agradeço aos meus pais pela vida, pelo amor, exemplo e incentivo e aos meus irmãos pelo companherismo e apoio.

A todos os meus colegas, que de longe ou de perto acompanharam e torceram por mim e de uma forma ou de outra, contribuíram para a finalização deste trabalho.

Muito obrigada!

“Desistir...eu já pensei seriamente nisso, mas nunca me levei realmente a sério; é que tem mais chão nos meus olhos do que o cansaço nas minhas pernas, mais esperança nos meus passos, do que tristeza nos meus ombros, mais estrada no meu coração do que medo na minha cabeça.”

CORA CORALINA

RESUMO

A Síndrome de Imunodeficiência Adquirida é uma doença causada pelo Vírus de Imunodeficiência Humana (HIV) e infecta milhares de pessoas em todo o mundo. A infecção causada por este vírus permite a infecção por agentes oportunistas como os do Gênero *Cryptococcus* causador da criptococose, uma doença fúngica diretamente correlacionada com a infecção por HIV. As espécies *C. neoformans* e *C. gattii* são as que mais acometem o organismo humano, e são adquiridos por inalação de propágulos fúngicos. A epidemiologia deste fungo se deve a sua distribuição universal, prevalente em climas subtropicais e tropicais. É um fungo com grande virulência e atinge inicialmente os pulmões podendo se instalar em outros órgãos, como o sistema nervoso central, sendo a forma mais grave da doença, levando vários indivíduos à morte. O diagnóstico é realizado por métodos como Tinta Nanquim (exame direto), sorologia, cultura, citologia e histologia. A criptococose é mais prevalente em países africanos, considerando o alto índice de pessoas imunodeprimidas, mas há inúmeros relatos de pessoas infectadas em todo mundo, como América do Norte, continente Europeu e mesmo no Brasil. Há vários registros da doença nos estados brasileiros, inclusive no estado de Minas Gerais. O tratamento desses indivíduos é realizado pela administração de anfotericina B, padrão ouro no tratamento de criptococose graves, como no caso da meningoencefalite. Ações permanentes e constantes devem ser empregadas no acompanhamento e tratamento dos indivíduos acometidos com a criptococose, favorecendo sua melhor sobrevivência, auxiliando na redução dos sintomas.

Palavras-chave: AIDS/HIV, CRIPTOCOCOSE, INFECÇÃO, EPIDEMIOLOGIA

ABSTRACT

Acquired Immunodeficiency Syndrome is a disease caused by the Human Immunodeficiency Virus (HIV) and infects thousands of people around the world. The infection caused by this virus allowed infection by opportunistic agents such as the *Cryptococcus* genus causing cryptococcosis, a fungal disease directly correlated with HIV infection. The species *C. neoformans* and *C. gattii* are the ones that most affect the human organism, and are acquired by inhalation of fungal propagules. The epidemiology of this fungus is due to its universal distribution, prevalent in subtropical and tropical climates. It is a fungus with great virulence and initially reaches the lungs and can settle in other organs, such as the central nervous system, being the most severe form of the disease, leading several individuals to death. Diagnosis is performed by methods such as India ink (direct examination), serology, culture, cytology and histology. Cryptococcosis is more prevalent in African countries, considering the high rate of immunocompromised people, but there are numerous reports of infected people worldwide, such as North America, European continent and even Brazil. There are several records of the disease in the Brazilian states, including in the state of Minas Gerais. Treatment of these individuals is performed by administration of amphotericin B, gold standard in the treatment of severe cryptococcosis, as in the case of meningoencephalitis. Permanent and constant actions should be employed in the monitoring and treatment of individuals affected by cryptococcosis, favoring their better survival, helping to reduce symptoms.

keyword: AIDS/HIV, CRYPTOCOCCOSIS, INFECTION, EPIDEMIOLOGY

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Impacto da infecção pelo HIV sobre a imunidade celular para fungos patogênicos oportunistas.....	21
Figura 2	Nódulos pulmonares em um paciente assintomático com criptococose pulmonar isolada.....	25
Figura 3	Coloração da tinta nanquim. Levedura encapsulada visto na preparação nanquim de Líquido cefalorraquidiano (LCR) em um paciente com meningite criptocócica.....	29
Figura 4	Histologia hepática mostrando células de levedura PAS-positiva em um caso decriptococose disseminada.....	31
Figura 5	Desenvolvimento e disseminação de infecções no hospedeiro humano.....	40
Figura 6	Estudo do perfil dos pacientes na admissão no Hospital- Mulago Hospital Nacional de Referência e Ensino, em Kampala, Uganda.....	51
Figura 7	Incidência geográfica de MC nos EUA.....	56

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Dados obtidos de estudos realizado no Brasil, Argentina, Chile, Colômbia, México, Peru, Venezuela, Guatemala e Espanha com amostras de pacientes com HIV/AIDS.....	47
Gráfico 2	Sorotipos de <i>C. Neoformans</i> identificados no período entre 1987 e 2001 em cinco regiões da Colômbia. Não foram isolados sorotipos AD ou D.	48
Gráfico 3	Hospitalizações para MC nos EUA.....	56
Gráfico 4	Na mortalidade hospitalar por milhão de população em pacientes infectados pelo HIV.....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Total de isolados de <i>Cryptococcus neoformans</i> de amostras clínicas, veterinárias e ambientais, incluindo a Espanha.....	46
Tabela 2	Características dos Pacientes Recém-Inscritos em uma Clínica de HIV / AIDS Malawiana e Prevalência de CrAg com Contagem de CD4 <100 Células / mL ou Estágio III ou IV Clínico de HIV / AIDS da OMS.....	53

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Diagnóstico de criptococose em 131 pacientes de acordo com o local da infecção.....	49
-----------------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS:	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
AHRQ:	Agência de Pesquisa e Qualidade em Saúde
AmBd:	Anfotericina B
BAL:	MiniBall – Coletor de amostras de aspirado traqueal
BMEC:	Células endoteliais microvasculares cerebrais
CDC:	Centro de Controle e Prevenção
CSF:	Flúido Cerebro Espinhal
CrAg	Antígeno Polissacarídeo Capsular Criptocócico
COAT:	Teste cronológico criptocócico óptico
EUA:	Estados Unidos da América
Fator Kb:	Factor nuclear kappa B
GalXM:	Galactoxylomanana
GXM:	Glucuronoxylomanana
HIV:	Vírus da Imunodeficiência Humana
IL	Interleucina
IRIS	Síndrome Inflamatória da Reconstituição Imunológica
INF-γ	Interferon Gama
LCR	Líquido Céfalorraquidiano
L-DOPA	Levodopa
MC	Meningite Criptocócica
MHC	Complexo de Histocompatibilidade
Mpr1	Metalloprotease
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAS	Coloração de Ácido Periódico – Schiff

pH	Potencial Hidrogeniônico
PNO	Pacífico Noroeste
RNA	Ácido Ribonucleico
SNC	Sistema Nervoso Central
TAR	Terapia Antirretroviral
TCD4	Células de Linfócitos CD4
TCR	Receptor de Células T
Th2	Células T Auxiliares
Th17	Células T Auxiliares
TNF	Fator de Necrose Tumoral
5-FC	Flucitosina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVO	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	18
3 METODOLOGIA	19
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
4.1 INFEÇÃO FÚNGICA E HIV/AIDS	20
4.2 CRIPTOCOCOSE	22
4.3 GÊNERO E ESPÉCIE	22
4.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	24
4.4.1 Infecção Pulmonar	24
4.4.2 Infecção no SNC	25
4.4.3 infecção em outros órgãos e tecidos	26
4.4.3.1 Pele	26
4.4.3.2 Próstata	26
4.4.3.3 Ocular	27
4.4.3.4 Ossos	27
4.5 DIAGNÓSTICO	28
4.5.1 Exame direto	28
4.5.2 Cultura	29
4.5.3 Citologia e Histopatologia	30
4.5.4 Sorologia	31
4.6 VIRULÊNCIA	32
4.6.1 Enzima Lacase	34

4.6.2 Inibição do sistema imune.....	36
4.6.3 Cápsula.....	37
4.6.4 Células Titânicas.....	37
4.7 PATOGÊNESE.....	38
4.7.1 Sistema Nervoso Central.....	39
4.8 TRATAMENTO.....	42
4.8.1 Tempo da terapia anti-retroviral.....	44
4.9 EPIDEMIOLOGIA.....	45
4.9.1 Epidemiologia Ibero Americana.....	46
4.9.2 Epidemiologia na América do Sul.....	47
4.9.3 Epidemiologia em regiões como a Europa, América do Norte e África.....	50
4.9.3.1 Epidemiologia em Uganda.....	50
4.9.3.2 Epidemiologia em Malawi.....	52
4.9.3.3 Dados epidemiológicos em várias regiões da África SubSaariana.....	53
4.9.3.4 Epidemiologia no Estados Unidos.....	54
4.9.3.4.1 Tendências da Hospitalização total.....	55
5 CONCLUSÃO.....	58
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

O HIV, Vírus da Imunodeficiência Adquirida, é um vírus que ao ser transmitido invade as células do sistema imunológico, desencadeando uma série de processos. O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é um vírus acomete grande parte da população mundial, sendo descrito em vários países. É precursor de inúmeras doenças pela capacidade reduzida do organismo humano em reagir contra diversas infecções. Esse vírus infecta as células de leucócitos TCD4, driblando e desestabilizando o sistema imune de forma a fazê-lo incompetente diante de outras infecções, tornando as pessoas infectadas imunodeprimidas. Em indivíduos que não foram diagnosticados e não realizam o tratamento adequado desenvolvem a AIDS (Síndrome de Imunodeficiência Adquirida), fase em que o organismo não consegue mais reagir a presença do vírus, dando origem a doença propriamente.

A criptococose é umas das infecções mais prevalentes em indivíduos com HIV/AIDS, é adquirida por inalação de propágulos fúngicos que estão presentes no ambiente. Esta levedura é encontrada em locais de clima tropical e subtropical, sendo encontrada nas fezes de aves, como pombos e ovos de árvores, com distribuição universal, inclusive em ambientes urbanos. Esta levedura é encontrada também no Canadá, mostrando a adaptação deste fungo ao clima temperado. O gênero *Cryptococcus* é pertencente à Classe dos Basidiomicetos e as espécies *C. neoformans* e *C. gattii* e são as que mais acometem o homem.

A Criptococose tem fase inicial nos pulmões, após inalação os macrófagos alveolares são infectados desencadeando uma resposta celular, podendo ocasionar derrames pleurais, linfadenopatia hilar, cavitação pulmonar e invadir outros órgãos como pele e ossos. A meningoencefalite ou neurocriptococose é a forma mais grave da doença, consequência da invasão do sistema nervoso central através da barreira hematoencefálica pelo fungos via sistemas descritos como paracitose, transcitose e “cavalo de tróia”. Os fatores de virulência do *Cryptococcus* são muitos, dentre eles, citamos a presença da cápsula polissacarídica, que tem a capacidade de dificultar a fagocitose, a produção da enzima lacase, enzima inibidora das espécies reativas de oxigênio presentes nos fagócitos e produção melanina, conferindo a levedura certa proteção a exposição a luz UV. Esses fatores de virulência em conjunto propiciam ao fungo sobreviver em ambientes naturais, inclusive em organismos como amebas,

sendo estas umas das responsáveis pelo desenvolvimento destes fatores e possível resistência às defesas do organismo humano, favorecendo assim, sua disseminação para outros órgãos e tecidos.

O diagnóstico mais usado em laboratórios de análises clínicas é a pesquisa da Tinta Naquim, no LCR (líquido céfalo-raquí-diano), exame rápido de fácil realização, permite identificar as leveduras pela a visualização da cápsula polissacarídica presente no fungo. Outros métodos também são usados, como sorologia, histologia, citologia e cultura.

A anfotericina B (AmBd) é padrão ouro no tratamento de criptococose grave, como no caso da meningoencefalite. A anfotericina B lipossomal tornou-se uma opção de preferência com resultados semelhantes à AmBd para reduzir os efeitos nefrotóxicos. Em pacientes com disfunção renal a flucitosina (5-FC) é associada com a AmBd no tratamento de meningite criptocócica ou criptococose pulmonar.

2 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho é obter dados epidemiológicos de doenças infecciosas causadas por *Cryptococcus* spp. em pacientes infectados pelo HIV (Vírus de Imunodeficiência Humana), bem como relatar as manifestações clínicas da doença e a forma de diagnosticá-las. Além de relatar também a virulência deste agente patogênico e possíveis tratamentos para as patologias associadas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever o histórico da infecção pelo vírus HIV;
- Descrever o histórico da infecção por *Cryptococcus* spp.;
- Descrever correlação entre infecção por HIV e infecção por *Cryptococcus* spp.;
- Fazer uma revisão bibliográfica sobre dados epidemiológicos do *Cryptococcus* spp. ;
- Citar os fatores de virulência do *Cryptococcus* spp.;
- Relatar a patogênese e as manifestações clínicas da criptococose;
- Citar os diagnósticos laboratoriais usuais para a criptococose;
- Citar os tratamentos e as perspectivas na criptococose;

3 METODOLOGIA

Esta monografia é descritiva, baseada em pesquisa qualitativa e utilizou como metodologia de composição o acesso às literatura corrente nas bases: Scielo, Pubmed, base de dados da Capes, Google Acadêmico, base de dados da Organização Mundial de Saúde, Ministério da Saúde, DST/HIV.

Os trabalhos analisados foram obtidos em publicações de acesso público, via internet e revistas científicas, sendo preferencialmente analisadas as publicações dos últimos vinte e sete anos.

Foram pesquisadas publicações preferencialmente da língua inglesa, sendo usados como critério de inclusão os artigos publicados atuais e de revistas científicas de referência. Foram usados como critério de exclusão publicações que relatavam pouco conteúdo sobre os assuntos pesquisados.

Para obtenção dos dados foram pesquisados artigos científicos publicados entre o período de 1989 a 2016 e os seguintes termos foram utilizados como palavras-chaves: “Epidemiologia; criptococose; HIV; AIDS; *Cryptococcus* spp.; *C. neoformans*; *C.gattii*. “.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 INFECÇÃO FÚNGICA E HIV/AIDS

O HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) é um vírus pertencente ao gênero *Lentivirinae* e família *Retroviridae* e que tem como constituintes uma bicamada fosfolipídica no envelope externo, um capsídeo, camada proteica que serve como envoltório para a dupla fita de RNA de cadeia simples. Este vírus é o causador da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, conhecida habitualmente como AIDS (MOMBELLI et al., 2015; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

O vírus, ao infectar células humanas, inicialmente penetra na mucosa, permitindo que continuem infectando linfócitos T CD4, além de infectar macrófagos e células dendríticas. As células fagocitárias são responsáveis pela resposta imunológica inata que encaminha mais células T susceptíveis ao foco da infecção, acometendo linfonodos locais e o sistema linfático de forma a estabelecer e manter um reservatório viral latente, principalmente em linfócitos T CD4+ de memória (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Além disso, o pico de viremia acontece em um período entre 21 a 28 dias após a exposição do vírus. Ademais, a viremia está associada a um acentuado declínio das células linfocíticas TCD4 e após a indução tardia e insuficiente da resposta imunológica devido a disseminação sistêmica ativa do vírus (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Em decorrência da ação viral, o sistema imunológico induz a produção de linfócitos TCD4 que se tornam alvos para outras infecções e produção de linfócitos TCD8 que controlam de forma parcial a infecção, mas não impede a depleção de linfócitos TCD4, progredindo para instalação da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013). Em consequência, a carga viral plasmática entra em declínio após uma resposta imune celular específica contra o HIV, que resulta em síntese de anticorpos específicos de cada indivíduo, chegando ao estágio de uma infecção crônica (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Esse declínio é considerado um mal prognóstico em relação aos linfócitos CD4 no sangue periférico por desencadear depleção no sistema imune em resposta à infecção pelo vírus HIV, que ao infectar células humanas macrófágicas, causam imunossupressão em favor de sua replicação, resultando em falha na detecção específica nesta população de linfócito, tornando se mais susceptível a diversos processos infecciosos (Figura 1) (ARMSTRONG-JAMES; MEINTEJS; BROWN, 2014).

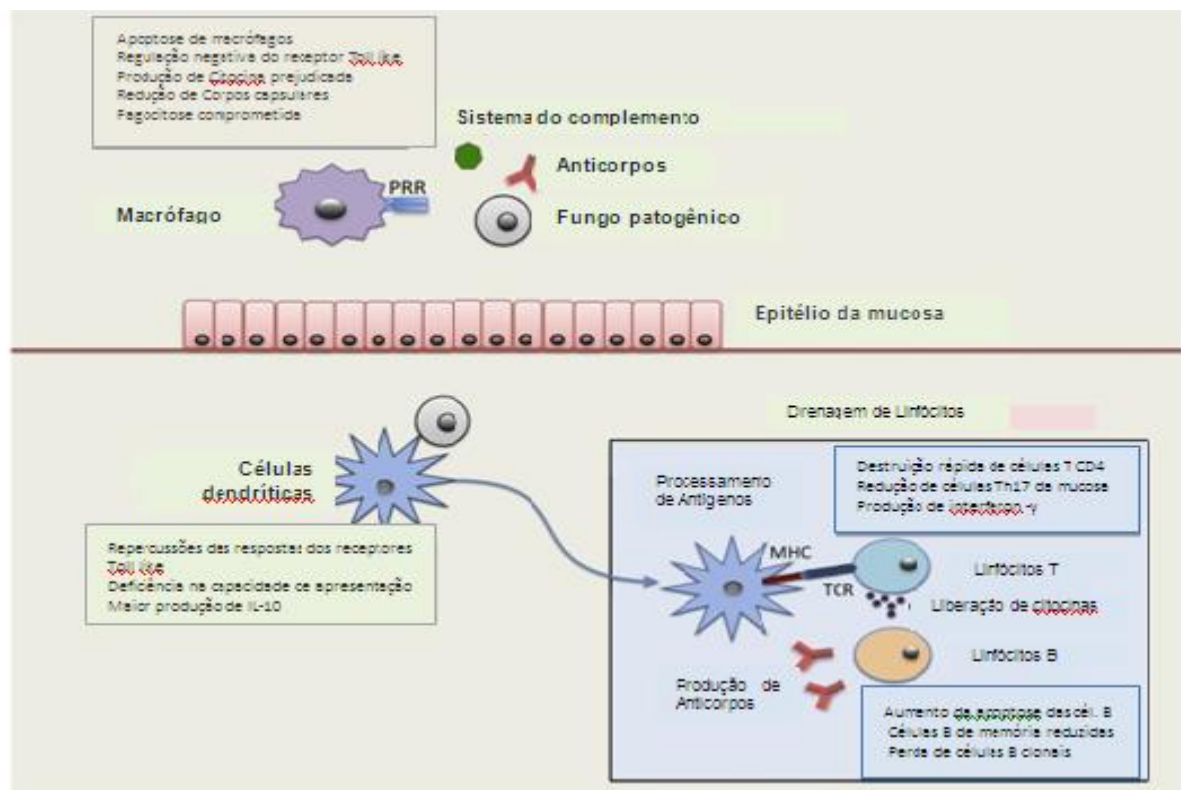


Figura 1. Impacto da infecção pelo HIV sobre a imunidade celular contra fungos patogênicos oportunistas. O HIV provoca múltiplos defeitos tanto na resposta inata como na adaptativa do sistema imune, levando a susceptibilidade intensificada a doenças fúngicas invasivas. A infecção de macrófagos pelo HIV compromete a produção de citocinas, afetando as respostas de células dendríticas, tornando-as desreguladas com baixa capacidade de apresentar antígenos aos linfócitos T, influenciando assim no processo de infecção fúngica. O número de linfócitos T são reduzidos, com defeitos específicos na resposta Th17. A perda de subconjuntos de memória celular clonal B contribui ainda mais para respostas com deficiência, especialmente contra organismos encapsulados. Abreviaturas: PRR, receptor de reconhecimento de padrões; (TCR), receptor de células T; (MHC) complexo principal de histocompatibilidade Adaptado de (ARMSTRONG-JAMES; MEINTEJS; BROWN, 2014).

Dentre outros processos infecciosos citamos as infecções fúngicas, que está entre as principais causadoras do aumento no índice de mortalidade em todo mundo em pessoas acometidas com AIDS (ARMSTRONG-JAMES; MEINTEJS; BROWN, 2014). Visto que esta síndrome é apresentada como uma doença com característica endêmica, constituída de fenômenos pandêmicos, que vem sofrendo alterações epidemiológicas nos últimos anos (MOMBELLI et.,al 2015). Entre as principais doenças fúngicas que mais acometem pessoas com HIV, podemos destacar a criptococose (RAMOS-E-SILVA, 2012).

4.2 CRIPTOCOCOSE

Criptococose é uma doença infecciosa, cujo agente etiológico é pertencente a classe dos Basidiomicetos do gênero *Cryptococcus*, sendo identificada no final do século XIX pelo médico patologista Otto Busse e médico Abraham Buschke apartir de um granuloma crônico na tíbia de uma paciente de trinta anos (KNOKE e SCHWESINGER, 1994; GULLO et al., 2013; MAZIARZ e PERFECT, 2016). Quase um século depois *Cryptococcus* spp. foi reconhecido como um importante patógeno ameaçador da saúde humana após o quadro pandêmico de AIDS na década de 80, classificando a criptococose como fator determinante para análise da infecção causada pelo vírus HIV, ao verificar a maior redução no índice de células T (MAY et al., 2016; ARMSTRONG-JAMES;MEINTEJS; BROWN, 2014).

4.3 GÊNERO E ESPÉCIE

O *Cryptococcus neoformans* foi considerado o único agente etiológico da criptococose, mas em 2002 métodos moleculares revelaram enorme variedade do agente *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*, classificando posteriormente *Cryptococcus gattii* como espécie distinta (HAGEN et al., 2015). Essas duas espécies, *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* normalmente causam

doenças em humanos, que podem ser oportunistas, relacionadas principalmente ao *C. neoformans*, associadas à condição de imunodepressão, enquanto a infecção primária ocorre principalmente em hospedeiros imunocompetentes infectados com *C. gattii*. Verificou-se recentemente um surto em pessoas imunocompetentes na América do Norte e no Canadá, abrindo discussões acerca da capacidade de algumas linhagens se comportarem como patógenos primários, o que reforça análises baseadas em sequenciamento genômico, induzindo mais a divisão do *C. neoformans* em sorotipos A, D e AD, surgindo duas variantes (*C. neoformans* var. *grubii* (sorotipo A) e *C. neoformans* var. *neoformans* (sorotipo D)), delineando as espécies (*C. neoformans* e *Cryptococcus de neoformans*) e o *C. gattii* com sorotipo B e *C.* em cinco espécies (*C. gattii*, *Cryptococcus bacillisporus*, *Cryptococcus deuterogattii*, *Cryptococcus tetragattii* e *Cryptococcus decagattii*) (HAGEN et al., 2015). Embora tenham sido propostas novas classificações, a taxonomia do gênero *Cryptococcus* ainda não está totalmente definida, sendo assim este trabalho apresentará as informações existentes referindo-se apenas a *C. neoformans* e *C. gattii* (GULLO et al., 2013; MAZIARZ e PERFECT, 2016).

Considerando características comuns, entre as espécies *C. neoformans* e *C. gattii*, como o fato de adaptar-se a pressões ambientais e a semelhança em carácter evolutivo, elas diferem em relação à distribuição geográfica, manifestações clínicas, virulência e a nichos ecológicos (GULLO et al., 2013; MAZIARZ e PERFECT, 2016). A espécie *C. neoformans* é globalmente distribuída, já *C. gattii* tem sido visto como um fungo predominante em regiões de clima tropical ou subtropical. Porém, foram verificados a presença de reservatórios ambientais para *C. gattii* no Canadá, norte da Europa e Estados Unidos, esses achados confirmam a amplitude de ecossistemas onde esta espécie é encontrada. Ademais, tanto *C. neoformans* quanto *C. gattii* tem como características comuns a capacidade de sobreviver e replicar em amebas e nematódeos de vida livre de solo, verificando assim a possibilidade destes hospedeiros alternativos desempenharem importante papel na distribuição geográfica e na virulência das espécies fúngicas (STEENBERGEN, SHUMAN, e CASADEVALL, 2001).

Além de ser considerada uma doença importante em todo o mundo devido o surgimento da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS), a criptococose é a causa regular de meningoencefalite, destacando-se como uma doença sentinela para HIV/AIDS. Entretanto a doença não é notificada de forma obrigatória, logo as

estimativas verdadeiras sobre a distribuição geográfica e prevalência são poucas. Contudo a incidência global da criptococose reduziu devido o uso de (TAR) terapia Antirretroviral altamente ativa mas ainda assim, registra-se com número elevado de óbitos, chegando 625.000 mortes por ano, principalmente nos países em desenvolvimento por não terem um acesso amplo ao tratamento (MADURO et al., 2015).

4.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

4.4.1 INFECÇÃO PULMONAR

A infecção por *Cryptococcus* ocorre devido à inalação de propágulos infecciosos, que ao serem inalados pelas vias áreas alcançam os macrófagos alveolares desencadeando uma resposta celular. Esta resposta envolve células T helper e fatores pró-inflamatórios contribuindo, desta forma, para formação de granulomas (nódulos não calcificados) e estabelecimento uma infecção latente nos fagolisossomos, inativando as leveduras e permanecendo, estas, viáveis nos linfonodos pulmonares em indivíduos assintomáticos (Figura 2), (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

Essa sintomatologia é observada em um terço dos pacientes imunocompetentes que permanecem assintomáticos na maioria dos casos por anos. Entretanto com uma imunossupressão esses granulomas são reativados e a sua proliferação no local da infecção pode causar derrames pleurais, linfadenopatia hilar, cavitação pulmonar, podendo disseminar para outros órgãos e tecidos (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

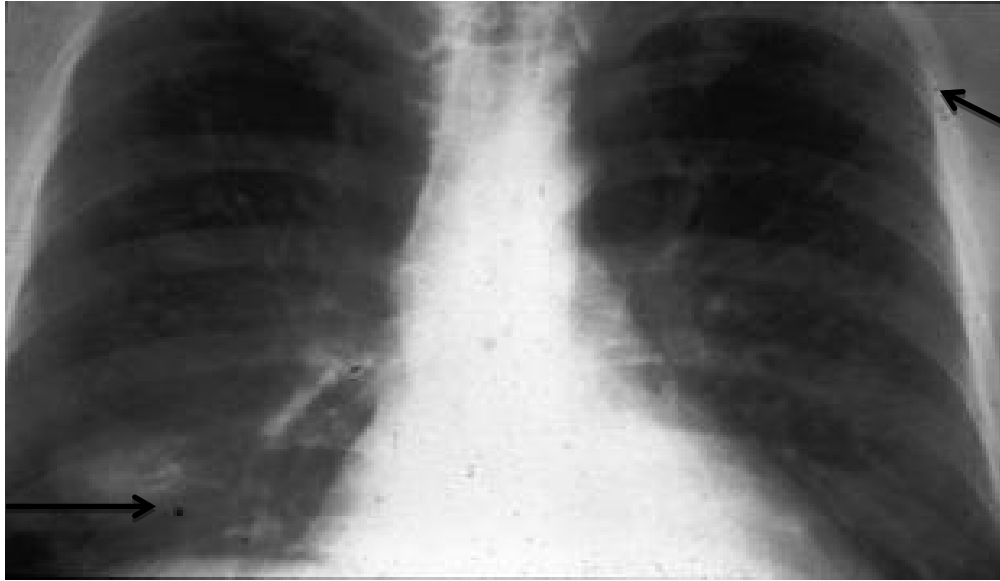


Figura 2: Nódulos pulmonares em um paciente assintomático com criptococose pulmonar isolada. (*Courtesy of J. R. Perfect, MD, Durham, NC.*) - (MAZIARZ e PERFECT, 2016)

4.4.2 INFECÇÕES NO SNC

Em indivíduos imunocomprometidos como é o caso de pacientes com HIV, além do envolvimento pulmonar, o quadro pode levar a instalação da forma mais graves da infecção no sistema nervoso central. Isso ocorre pela dispersão do patógeno na corrente sanguínea alcançando e invadindo o sistema nervoso central, atravessando a barreira hematoencefálica. Essa barreira é uma interface entre a circulação periférica e o sistema nervoso central (SNC), responsável pela homeostasia e regulação de entrada de substâncias necessárias para o bom funcionamento cerebral (LIU, PERLIN e XUE, 2012).

Um dos mecanismos utilizados pelas formas livres das células leveduriformes criptocócicas, assim como outros microrganismos para atravessar essa barreira é conhecido como “cavalo de Tróia”. Processo pelo qual se refere à penetração do patógeno, interiorizado nos fagolisossomos dos linfócitos, através das junções entre as células epiteliais, alcançando o sistema nervoso central (LIU, PERLIN e XUE, 2012).

A neurocriptococose desencadeia sintomas como fortes dores de cabeça, irritação, perda de memória, febre, neuropatia craniana, atividade mental

comprometida. Esse quadro gera pressão intracraniana devido à presença aumentada carga de microrganismos observados no líquido cefalorraquidiano) (MAZIARZ e PERFECT, 2016). Ademais, a meningite criptocócica tornou-se uma importante infecção a nível global no decorrer das décadas devido ao crescimento das populações vulneráveis, chegando a milhares de novos casos de infecção ao ano e registrando números expressivos de mortalidade e referida morbidade, principalmente em indivíduos com o vírus da imunodeficiência adquirida (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

Apesar de acometerem preferencialmente o sistema nervoso central e pulmões, os agentes *C. neoformans* e *C. gattii* podem ser encontrados em vários locais do corpo, infectando articulações, ossos, pele e próstata em pacientes com sistema imunológico extremamente imunocomprometidos (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

4.4.3 INFECÇÃO EM OUTROS ÓRGÃOS E TECIDOS

4.4.3.1 Pele

A terceira manifestação clínica mais comum são as lesões cutâneas, que muitas vezes são indistinguíveis de outras infecções, sendo necessária biópsia e histopatologia para chegar a um diagnóstico preciso. No entanto, a detecção de lesões na pele é indicativa de uma infecção disseminada (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

As lesões cutâneas estão presentes na criptococose primária e apresentam características que variam de lesões acneiformes a vesicular e se assemelham a lesões de herpes simples ou herpes zoster, ou com aspecto nodular, nódulo ulcerativa a ulceração franca, simulando pioderma gangrenoso. Essas lesões podem apresentar também em forma de celulite, sendo esta um sinal frequente de difusão da doença cutânea primária, principalmente em paciente com imunodeprimidos (CHRISTIANSON, ENGBER e ANDES, 2003).

4.4.3.2 Próstata

Criptococose prostática em geral é assintomática, embora não seja um local raro para infecção criptocócica, servindo como reservatório da doença após recidiva. É o que se observa em uma infecção latente como exemplo a de *C. neoformans* durante um procedimento cirúrgico ao disseminar na corrente sanguínea, podendo chegar a outros órgãos, inclusive a próstata. Além disso, o líquido seminal e a urina podem ser positivos para *Cryptococcus* como consequência de um tratamento mal sucedido em pacientes com HIV, reforçando a necessidade de um tratamento prolongado (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

4.4.3.3 Ocular

Entre os sintomas e manifestações oculares observamos papiledema, paralisias oculares, incluindo lesões de retina que devido a infiltrações por leveduras no nervo óptico. Além disto, a hipertensão intracraniana pode agravar o quadro clínico do paciente (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

4.4.3.4 Ossos

C. neoformans é uma levedura que normalmente acomete qualquer órgão do corpo, sendo os primeiros registros de infecção observados em um paciente com osteomielite tibial no século XIX pelos professores Helferich e Grawitz da Universidade de Greifswal (KNOKE e SCHWESINGER, 1994). Observou-se também maior prevalência de lesões em vértebras e osteomielite criptocócica consequente de infiltrações relacionada à medula óssea presente em imunocomprometidos (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

4.5 DIAGNÓSTICO

Amostras de sangue, medula óssea, líquido cefalorraquidiano, secreção ocular e do trato respiratório, urina, mucosas, pele e outros tecidos podem ser utilizadas em testes para identificar a presença do patógeno. Para análise destes materiais biológicos são usados métodos como detecção de antígeno ou a presença de leveduras encapsuladas em exame direto, onde são usadas LCR, sangue, urina e líquidos corporais para otimizar o tratamento. Além disso, são utilizadas cortes histológicos para isolamento de *Cryptococcus* (RODRÍGUEZ-CERDEIRA et al., 2014).

Existem vários métodos para identificação de *Cryptococcus* spp., dentre os mais usados destacamos a tinta da china ou tinta nanquim, que consiste em um método de detecção direta a fresco a partir da amostra clínica, a histopatologia de tecidos infectados, os métodos sorológicos e os testes moleculares. Os testes moleculares são usados somente para pesquisa (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

4.5.1 EXAME DIRETO

O exame direto é o método mais usado por ser rápido e de fácil realização. Esta técnica utiliza tinta nanquim para detecção de leveduras encapsuladas globulares com ou sem brotamento e com halo claro duplicando o tamanho da levedura (Figura 3) (FANE et al., 2015). A pesquisa é realizada a partir do líquido (LCR - líquido cefalorraquidiano), onde observamos a variação no tamanho da levedura entre 5 a 20 μm de diâmetro. Na pesquisa verificou-se, que os resultados falsos positivo oriundos de células linfocíticas intactas, células teciduais ou células leveduriformes inviáveis limitam o diagnóstico por microscopia. Verificou-se também, nos resultados falsos negativo que a positividade pode chegar até 84% dos casos, devido à carga fúngica mínima ou quase inexistente, dependendo de cada paciente. Portanto, a sensibilidade do teste é dependente da carga fúngica, sendo descrito em 80% dos casos de meningite criptocócica em pacientes com HIV/AIDS (FANE et al., 2015 ; MAZIARZ e PERFECT, 2016).

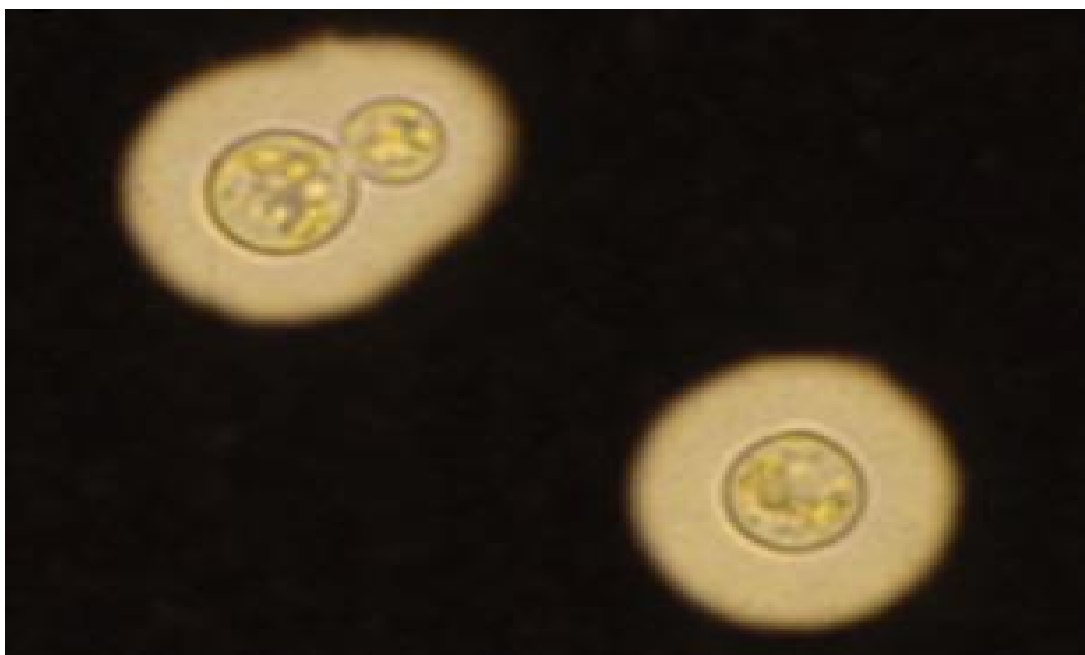


Figura 3: Coloração por tinta nanquim. Levedura encapsulada visto na preparação nanquim de líquido cefalorraquidiano (LCR) em um paciente com meningite criptocócica. (Courtesy of J. R. Perfect, MD, Durham, NC.) - (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

4.5.2 CULTURA

Amostras biológicas como líquido, biópsia, escarro, lavado brônquio alveolar, aspirado traqueal, ou qualquer fluido ou tecido corporal são facilmente cultiváveis em meios de cultura bacteriana e em rotina fúngica (ANTINORI, 2013). Em meio de cultura sólido são observadas colônias cor creme opaca após um período de incubação de 48 a 72 horas em temperatura de 30°C a 35°C em condição de aerobiose. Em um período longo de incubação a coloração da colônia altera para um tom laranja castanha ou castanha. O aspecto mucóide da colônia se deve ao tamanho da cápsula ao redor das leveduras (MAZIARZ e PERFECT, 2016). Considerando o crescimento rápido de grande parte das linhagens, é importante para os pacientes que fazem tratamento antifúngico manter a cultura por aproximadamente quatro semanas. A cultura do líquido é positiva em até 90% dos indivíduos adultos com meningite criptocócica associada ao HIV, enquanto no sangue a positividade chega a 70% nestes pacientes (ANTINORI, 2013).

Uma ferramenta usada com grande empenho na pesquisa primária para terapêutica e para avaliar a taxa de eliminação da infecção fúngica é a cultura de levedura quantitativa de líquido (BICANIC et al., 2009). Embora não tenha se tornado uma prática na rotina laboratorial, essa quantificação é eficaz e importante para correlacionar com os resultados do tratamento com antifúngico (BROUWER et al., 2004).

4.5.3 CITOLOGIA E HISTOPATOLOGIA

Métodos mais sensíveis que a tinta da China, a citologia do sedimento centrifugado de líquido e de outros líquidos corporais e a coloração histopatológica de tecidos e órgãos permite melhor identificação de *Cryptococcus* spp. A identificação e visualização da levedura são realizadas pela observação de brotamento e manchas especiais que circundam a cápsula polissacarídica do fungo, como no caso das colorações de Mucicarmim, de PAS (Reação de Ácido Periódico – Schiff) e Azul de Alcians (Figura 4). Outras colorações também facilitam a visualização e identificação do fungo, como na coloração com calcoflúor onde o corante se liga a quitina. Na coloração pelo método de Fontana Masson o corante diferencia a melanina presente na parede celular da levedura e no método de Gomori cora-se a parede celular do fungo. Todas essas colorações podem ser usadas em espécimes clínicos para identificação (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

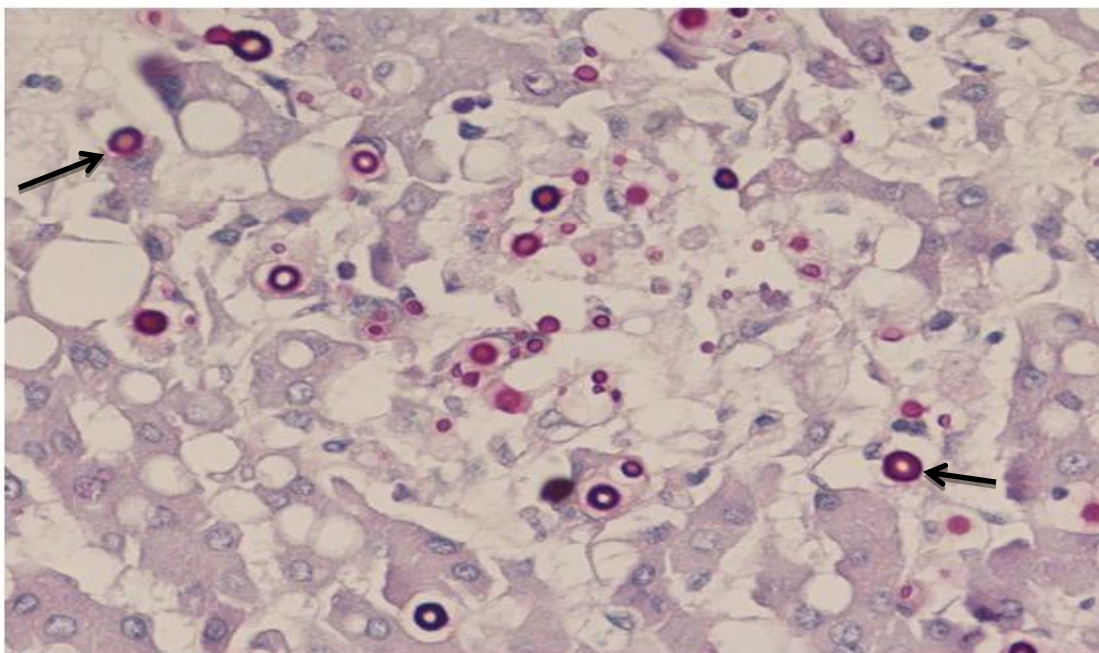


Figura 4: Histologia hepática mostrando células de levedura PAS-positiva em um caso de criptococose disseminada (Courtesy Dr. Carlo Parravicini) - (ANTINORI, 2013).

4.5.4 SOROLOGIA

A partir da detecção do antígeno polissacarídeo capsular criptocócica (CrAg) houve uma melhora significativa dos testes sorológicos para diagnóstico de criptococose. A pesquisa do antígeno criptocócico é útil na triagem para identificação de pessoas com a infecção por HIV em estágio avançado da doença e com risco de evoluir para meningite criptocócica ou para a forma disseminada (ANTINORI, 2013). Ressalta-se também a necessidade da punção lombar em muitos casos objetivando descartar uma possível meningite assintomática. Em concordância, o achado de imagens compatíveis juntamente com a cultura de escarro positiva fecha o diagnóstico de doença pulmonar (SCHMIEDEL E ZIMMERLI, 2016).

Os testes sorológicos dispõem de uma gama de materiais biológicos, sendo os mais coletados o soro e o líquido. As metodologias para pesquisa do antígeno se diferem em aglutinação em látex com sensibilidade e especificidade de 93 a 100%, enquanto que o ensaio imunoenzimático apresenta sensibilidade e especificidade de 93 a 98% (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

O ensaio de fluxo lateral teste atualmente aprovado, possui sensibilidade e especificidade superior a 98% em amostras de soro, sangue capilar, líquido cefalorraquidiano e urina (JARVIS et al., 2011). As vantagens do teste semi-quantitativo são muitas sobre outros métodos sorológicos, entre elas, citamos a necessidade de uma infraestrutura mínima laboratorial, liberação do resultado em 15 minutos, reação estável em temperatura ambiente e baixo custo, além de excelente desempenho em uma variedade de situações clínicas (JARVIS et al., 2011).

Observa-se também a correlação de títulos basais de antígenos polissacarídicos no LCR e no soro com a carga fúngica em pacientes com meningite criptocócica, tendo importância no prognóstico desses pacientes. Contudo, na forma aguda observa-se que a cinética de apuramento do antígeno é mais lenta e menos previsível em resposta ao tratamento comparado a cultura, devido a um valor limitado na monitorização seriada de títulos de antígenos (KABANDA et al., 2014). Nos resultados falsos negativos constatados no teste de aglutinação em látex é possível verificar o efeito prozona, consequente de títulos consideravelmente altos pela presença exacerbada de antígenos, fazendo-se necessário o uso de diluições (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

Ademais, outros fatores também podem desencadear um resultado falso negativo como no caso de carga fúngica baixa, observada na meningite crônica de baixo grau e na fase inicial da doença, além do armazenamento de amostras de forma inadequada (MAZIARZ e PERFECT, 2016).

4.6 VIRULÊNCIA

A infecção criptocócica é adquirida pela inalação de esporos ou células dessecadas de leveduras. As células criptocócicas tipicamente entram no hospedeiro humano através da inalação e vão parar nos pulmões. Inicialmente são reconhecidos pelo recrutamento dos fagócitos, macrófagos alveolares ou células dendríticas, mas podem evitar a fagocitose, quer por crescer em forma de células muito grandes as células titânicas, ou devido às propriedades antifagocíticas da cápsula fúngica. Sendo necessário também o uso de outros fatores de virulência

para se estabelecer no organismo do hospedeiro (SABIITI et al., 2014; MAY et al., 2016).

Se ocorrer a fagocitose, contudo, os *Cryptococcus* podem sobreviver e persistir nos fagócitos. Para a maioria das linhagens, é então necessária uma falha na função imune do hospedeiro para permitir a proliferação intracelular. Após a replicação no pulmão, as células de *Cryptococcus* são capazes de se disseminar para outros tecidos, incluindo o sistema nervoso central (SNC), (MAY et al., 2016).

A seleção natural favorece a aquisição de fatores de virulência específicos em patógenos oportunistas e se torna um enigma evolutivo, uma vez que, outros membros da população fúngica permanecem como organismos exclusivamente ambientais. Situação que enquadra perfeitamente ao *Cryptococcus*, por sua abundância no ambiente e pela capacidade de adaptar e sobreviver no hospedeiro, visto que, esta hipótese é sustentada pela observância de que a seleção direta da patogênese criptocócica não resulta da infecção no hospedeiro mamífero e sim de patogênese acidental dada pela sua evolução, resultantes de outras pressões seletivas em nichos ambientais e animais (SABIITI et al., 2014).

No entanto, os isolados de *Cryptococcus gattii* originários do Pacífico Noroeste (PNO) podem proliferar em células hospedeiras imunocompetentes, explorando um mecanismo ainda não esclarecido totalmente: em resposta a espécies reativas de oxigênio geradas pelos fagócitos, algumas células criptocócicas adquirem uma morfologia incomum. Esta morfologia é caracterizada por tubularização extensa de suas mitocôndrias, o que aumenta a sobrevivência das células vizinhas (através de um mecanismo que permanece obscuro). Proliferação do *Cryptococcus* spp. dentro dos fagócitos leva, em última instância, quer à lise das células hospedeiras, quer a um mecanismo de escape não lítico denominado vomocitose (MAY et al., 2016).

Dentre os fatores de virulência de *Cryptococcus* spp. destacam-se o crescimento a 37°C, a atividade da lacase, a cápsula polissacarídica, a proliferação intracelular em macrófagos e a síntese de melanina (SABIITI et al., 2014). Além disso, os fatores de virulência conferem proteção contra dessecação, proteção contra uma leve exposição à luz ultravioleta e a pressões ambientais (WARPEHA, PARK e WILLIAMSON, 2013).

Ademais, o *Cryptococcus* por sistema de evasão evita a morte por células macrofágicas, sistema este, desenvolvidos ao longo de sua evolução ambiental e

das interações com microrganismos de solo, como exemplo as amebas, nematódeos e provavelmente vertebrados, que de alguma forma contribuíram para seu potencial patogênico (KRONSTAD et al., 2016).

Estudos em laboratórios mostram a pressão seletiva por amebas de vida livre e sua correlação com sua forma de pseudohifas, que é uma das formas de resistência dos *Cryptococcus* no ambiente (MAGDITCH et al., 2012). Essa estrutura de resistência se modifica ao passar da forma de pseudohifas para leveduriforme em vertebrados (STEENBERGEN, SHUMAN e CASADEVALL, 2001).

Mesmo com a enorme distância evolutiva entre amebas de vida livres e os vertebrados, a maioria dos mecanismos adotados pelas células fagocíticas para eliminar agentes patogênicos, como por exemplo, a geração de espécies reativas de oxigênio ou a secreção de peptídeos antimicrobianos, são muito semelhantes aos usados pelas amebas na digestão do material englobado. Desta forma, no decorrer de milhares de anos, os *Cryptococcus* desenvolveram estratégias que favoreceram o crescimento e permanência da levedura no interior das amebas, e, paralelamente estas estratégias permitem sua sobrevivência nos fagócitos (MAY et al., 2016).

Esse paradigma se estende para outros patógenos não menos importantes, como, *Aspergillus* spp., *Blastomyces* spp. e *Legionella* spp. (BLISKA e CASADEVALL, 2009). Acredita-se que o desenvolvimento de fatores de virulência é decorrente de maior acesso do homem ao ambiente florestal e a necessidade de adaptação a novos ambientes devido ao aquecimento global (MAY et al., 2016).

4.6.1 ENZIMA LACASE

A lacase foi caracterizada como um dos primeiros fatores de virulência de *C. neoformans* (SALAS et al., 1996). A atividade desta enzima é sugerida como conversora de catecolaminas em quininas potencialmente tóxicas (LIU et al., 1999; COLOMBO e RODRIGUES, 2015). Sabe-se de outras maneiras do *Cryptococcus* evadir do sistema imunológico, mas muitos destes mecanismos ainda são desconhecidos. Embora o uso destes recursos antifagocíticos seja acionado, o englobamento do fungo pelo macrófago acontece. Contudo, após a absorção, o

Cryptococcus faz uso de artifícios para mudar a estrutura do fagossomo. Dentre esses artifícios está a modificação lipídica da membrana para troca de nutrientes, e essa modificação se deve a presença das enzimas lacase e fosfolipase. Além disso, dentro do fagossomo dos macrófagos, a levedura neutraliza a ação do pH e das espécies reativas de oxigênio, devido a propriedades antioxidantes da melanina fúngica e da secreção de urease, além de inibir a maquinaria autofágica do fagócito pela presença de sua cápsula polissacarídica (COELHO, BOCCA e CASADEVALL, 2014).

Estudos também demonstraram que a alta atividade da lacase está associada à sobrevivência criptocócica no interior dos macrófagos no líquido cefalorraquidiano em pacientes humanos e em *ex vivo*, ela também tem correlação com permanência de baixo nível de carga fúngica, mesmo após tratamento no período de duas semanas com antifúngico (SABITI et al., 2014; QIU et al., 2012; EVANS et al., 2015).

O tropismo de *C. neoformans* para o cérebro correlaciona-se com a presença de altas concentrações de compostos fenólicos, precursores para a atividade de lacase (NOSANCHUK et al., 2000; ZHU E WILLIAMSON, 2004). Na verdade, o cérebro humano contém concentrações abundantes de compostos fenólicos, como a norepinefrina, serotonina e dopamina (NOSANCHUK et al., 2000; SABITI et al. 2014). A dopamina é um neurotransmissor envolvido com a regulação da atividade motora, processos cognitivos, modulação de funções motivacionais e mecanismos de defesa e é um dos afetados por *C. neoformans* (WISE E ROMPRE 1989; RODGERS; NIKULINAI; COLE, 1994; MILLAN, 2003; HURD; SUZUKI; SEDVALL, 2001; LEE; DICKSON; CASADEVALL, 1996; COLOMBO e RODRIGUES, 2015).

A lacase também está relacionada com biossíntese de melanina, através do processo catalítico de polimerização deste pigmento na presença de compostos fenólicos, como por exemplo, o L-DOPA. Após a síntese, a melanina é transferida para parede celular, tornando essas células melanizadas e mais resistente às ações de antifúngicos, as enzimas do fagossomo, peptídeo antimicrobianos, as espécies reativas de oxigênio e a luz ultravioleta (ROSAS et al., 2000; EISENMAN et al., 2009; NOSANCHUK et al., 2000; ZHU e WILLIAMSON, 2004).

4.6.2 INIBIÇÃO DO SISTEMA IMUNE

A forma de controle do *Cryptococcus* no sistema imune consiste em impedir a morte dos fagócitos, diminuir o processo inflamatório em favorecimento a sua disseminação para o sistema nervoso central (MAY et al., 2016).

As células fagocíticas tem uma função importante na proteção do organismo contra infecções, engolfando e destruindo organismos invasores. Apesar de alguns microrganismos desenvolverem mecanismos para sobreviver nestas células, na grande parte, estes microrganismos patogênicos destroem o fagócito e infectam outra célula hospedeira. Entretanto, no organismo humano é demonstrada, a capacidade do fungo em escapar do macrófago sem matar a célula, por um mecanismo de expulsão. A expulsão independe do tempo decorrido da fagocitose, sem prejuízo na morfologia do macrófago, assim, sugere-se um processo que representa um mecanismo importante no qual os patógenos tem a capacidade de escapar de células fagocíticas sem desencadear morte para célula hospedeira (MA et al., 2006). Essa é uma das estratégias capazes de desestabilizar a resposta imune adaptativa, resultando em uma infecção latente (ALANIO et al., 2015). Essa capacidade de permanecer latente sem ativar a resposta celular é vista como uma evidência para a adaptação do hospedeiro a infecção por *Cryptococcus* (MAY et al., 2016).

Outra estratégia empregada por *Cryptococcus* spp. é diminuir a histocompatibilidade do MHC de classe II do complexo II, através do bloqueio da maturação das células dendríticas, interferindo assim, na redução na produção de citocinas e interleucinas (IL 12 e IL23), essenciais na apresentação de antígenos e na inibição de quimiocinas causando infiltrados pulmonares graves levando a uma doença fatal (ANGKASEKWINAI et al., 2014).

O tamanho do inóculo, virulência das linhagens e estado do sistema imune do hospedeiro são importantes para o desenvolvimento ou não da doença. Logo, o agravamento da doença é dependente do equilíbrio entre a quantidade de propágulos fúngicos inalados e a resposta imune do indivíduo infectado. (CHAYAKULKEEREE e PERFECT, 2006; TERADA, 2010). No caso do hospedeiro imunodeprimido, as

células inaladas disseminadas para o cérebro desenvolvem uma infecção latente ou doença aguda (CHAYAKULKEEREE e PERFECT, 2006).

4.6.3 CÁPSULA

A cápsula está diretamente envolvida na captação de ligação do *C. neoformans* por BMEC (células endoteliais microvasculares cerebrais), (SABITI e MAY, 2012). Os polissacarídeos capsulares glucuronoxilomanana (GXM) e galactoxilomanana (GalXM) presentes na cápsula do *Cryptococcus* são liberados no tecido do hospedeiro reduzindo a ação inflamatória por supressão pro inflamatória do fator kB((NF-kB) e pela diminuição dos níveis citocinas pro inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF), (MAY et al., 2016). Além disso, observou-se que a quitina criptocócica e seus derivados também alteram a resposta inflamatória do hospedeiro no período da infecção (WIESNER et al., 2015). Contudo, testes em ratos verificaram uma infecção cerebral comparável tanto pelas leveduras acapsulares, quanto pela encapsuladas (SHI et al., 2010).

4.6.4 CÉLULAS TITÂNICAS

O *Cryptococcus* emprega inúmeras formas de escapar da fagocitose, como a produção de células titânicas. Após a entrada nos pulmões do hospedeiro o *C. neoformans* produz células titânicas, sendo essas células poliploides são maiores que as típicas, que tem genoma haploide e medem entre 5 e 7 µm de diâmetro, com medida até 10 vezes maior que as normais, com predominância tetraplóide e octoplóide, além de, serem células densas e reticuladas, com parede mais espessa. Essas características promovem sua sobrevivência no hospedeiro pela redução da fagocitose (GERSTEIN et al., 2015).

A viabilidade do fungo, a produção de enzimas e a transição morfológica são essenciais para a travessia através da barreira hematoencefálica. Ademais, a variabilidade morfológica foi citada como fundamental na patogênese de *C. neoformans*. Estudos independentes dos laboratórios Nielsen e Zaragoza demonstram a presença de células gigantes (15 µm ou superior) e microcélulas (inferior a 1 µm) em tecidos infectados (ZARAGOZA et al., 2010; ZARAGOZA e NIELSEN 2013; ZARAGOZA, 2011; CRABTREE et al., 2012; OKAGAKI e NIELSEN 2012; OKAGAKI et al., 2010). Estes estudos também indicam que a maioria das células gigantes foram detectadas no espaço extracelular, enquanto as microcélulas estão associadas ao parasitismo intracelular de macrófagos (CASADEVALL, 2010).

4.7 PATOGÊNESE

Os fungos ambientais em geral provocam uma resposta inflamatória potente ao entrar em contato com o homem, mas em contraste com fungos patogênicos humanos, os fungos ambientais resultam em menor liberação de citocinas por parte do hospedeiro dependendo de características individuais de cada fungo (MAY et al., 2016).

A patogênese está diretamente relacionada com o metabolismo do fungo modificado observado no líquor. Como por exemplo, a síntese da cápsula exige maior demanda de energia e há uma correlação entre a espessura da cápsula e a gravidade da doença clínica (ROBERTSON et al., 2014). Sugerindo assim, que a atividade metabólica ativa agrava o quadro das infecções no sistema nervoso central. Ademais, diferentes estágios metabólicos implicam em diferentes respostas imunológicas, levando a contribuir para a variação na gravidade da doença. Dentro desta possibilidade, uma resposta pro inflamatória no líquido cefalorraquidiano que equivale uma interação com citocinas Th1 (IFN-γ robustos e IL-6), TH2 (IL-4 e IL-10) e TH17 citocinas (IL-17) são indicativas de alívio mais rápido de infecções e, posterior sobrevida e melhora nos quadro de meningites criptocócica associada vírus HIV (MAY et al., 2016).

4.7.1 SISTEMA NERVOSO CENTRAL

A criptococose neurológica é ocasionada por uso de múltiplas estratégias e manobras moleculares aplicadas pelo fungo para atravessar a barreira hematoencefálica, nestas estratégias destacam-se enzimas hidrolíticas, inositol e vesículas extracelulares (HUANG et al., 2012; LIU et al., 2013; VU et al., 2014; XU et al., 2014).

Na última década, estudos demonstraram que *C. neoformans* tem a capacidade de adentrar ao sistema nervoso central por meios indiretos e diretos. Dentre os mecanismos diretos inclui-se a transcitose através de células endoteliais e a entrada pelas junções intracelulares, e por métodos indiretos, inclui-se o sistema de fagócitos, o conhecido sistema de “cavalo de tróia” (CASADEVALL, 2010a; CHRÉTIEN et al., 2002; CHANG et al., 2004; CHARLIER et al., 2009; SHI et al., 2010). A passagem do fungo entre as células endoteliais através de transmigração paracelular é um dos mecanismos sugeridos que ocorre em criptococose (Figura 5) (MAY et al., 2016; CHEN et al., 2003; LIU PERLIN e XUE, 2012).

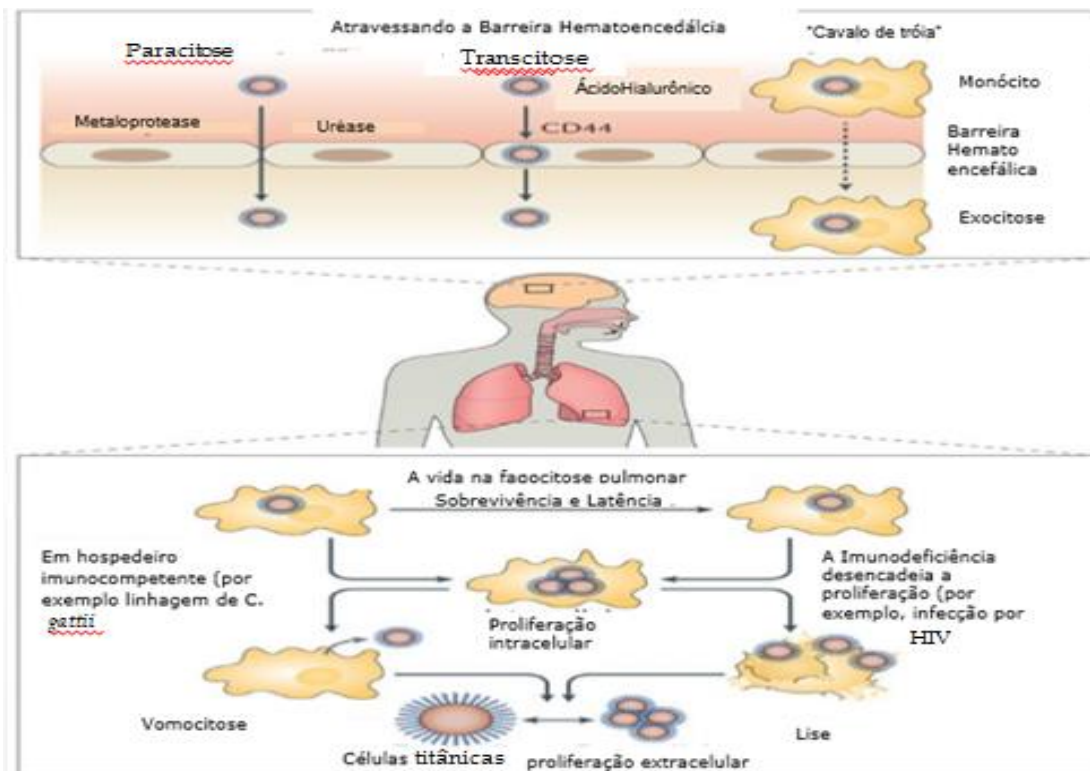


Figura 5: Disseminação de infecções no hospedeiro humano A entrada no SNC pode ocorrer de três maneiras: espremendo entre as células endoteliais do hospedeiro (parasitose), que envolve a protease fúngica Mpr1 e a enzima urease (o que provavelmente enfraquece a parede do vaso endotelial para facilitar a entrada); Através da deslocação direta através das células endoteliais (transcitose), num processo que é mediado pelo ácido hialurônico na cápsula fúngica e o receptor hospedeiro CD44; Ou por "engatar um passeio" dentro migrando fagócitos, através do que é conhecido como o "Cavalo de Tróia" hipótese. Barreira hematoencefálica. Adaptado de (MAY et al., 2016).

O deslocamento da levedura dos pulmões para a corrente sanguínea e posterior entrada no SNC envolve todas as estratégias do patógeno, e considerando que, o SNC é um ambiente altamente estéril, sendo necessária a evolução de inúmeras dessas habilidades para atravessar a barreira hematoencefálica (MAY et al., 2016).

Esses mecanismos são propostos para entender o sistema usado pela levedura para penetrar em uma barreira impenetrável, que é a barreira hematoencefálica. Primeiramente as células criptocócicas podem forçar sua entrada por meio das junções apertadas entre as células endoteliais por um processo descrito como parasitose, fazendo uso de proteases Mpr1 (metaloprotease) para promover transferência através das células endoteliais (VU et al., 2014).

No primeiro mecanismo, estudos adicionais utilizaram técnicas mais aprimoradas e demonstraram a capacidade do *Cryptococcus* em atravessar a barreira hematoencefálica pelas microvasculatura da membrana que recobre o cérebro. Inicialmente a levedura tenta penetrar de forma considerada passiva por um evento denominado embolia, mas é retida pelo estreitamento microvascular. Em seguida, sua migração dita de forma ativa, se dá pela secreção da enzima urease, cujas funções são poucas esclarecidas até o momento (OLSZEWSK et al., 2004). Contudo, sabe-se da produção de amônia por essa enzima, que é tóxico para células de mamíferos, ocasionando um enfraquecimento no vaso endotelial, facilitando assim a entrada do fungo (MAY et al., 2016).

Uma segunda maneira de adentrar na barreira hematoencefálica é a transcitose pelo uso de proteases extracelulares, necessária para a degradação da membrana basal e, conseqüentemente entrada no sistema nervoso central (Vu et al., 2014; RODRIGUES et al., 2003).

Surpreendentemente, estudos recentes demonstram altos níveis de inositol no cérebro, esses níveis altos culminam como um disparo na sequência do processo, elevando a expressão de ácido hialurônico pela levedura (LIU et al., 2013). Para sair da célula hospedeira infectada, entrar e disseminar no sistema nervoso central o fungo usa exocitose lítica e não lítica (ALVAREZ e CASADEVALL 2006; MA et al., 2006). Em diversas pesquisas observou-se que os níveis de ligação *C. neoformans* com células do hospedeiro foram baixas, mas a percentagem de células fúngicas internalizadas foi relativamente alta. Isto significa hipoteticamente, que mesmo uma internalização baixa, pode acarretar em uma elevada proliferação no parênquima cerebral (SABIITI e MAY, 2012).

Um terceiro e último mecanismo usado pelo *Cryptococcus* seria o transporte do fungo dentro dos fagócitos, sistema conhecido como hipótese do ‘cavalo de troia’ (MAY et al., 2016).

O *Cryptococcus* se dissemina através da transferência da levedura de um macrófago infectado para outro não infectado. A morfogênese do patógeno no interior do macrófago propicia a transferência da levedura, inferindo provável ação da quitina, modificando a estrutura conformacional das células fagocíticas e projetando o citoplasma até outro fagócito (ALVAREZ e CASADEVALL, 2007). Essa hipótese sustentada pela observância da depleção de macrófagos alveolares em modelos animais (KECHICHIAN SHEA e POETA, 2007). Enquanto que ao infectar

monócitos em testes *in vitro*, a transferência direta da levedura teve um aumento significativo de *Cryptococcus* no cérebro. Contudo, estudos salientam a percepção de que o fagócito se comporta como portador desses fungos para transcender a barreira hematoencefálica (CHARLIER et al 2009). Esse sistema apesar de ainda ser desconhecido, favorece a disseminação e atravessia pela barreira hematoencefálica no sistema nervoso central (ALVAREZ e CASADEVALL, 2007).

Ademais, estudos mostram que a carga fúngica no sistema nervoso central está correlacionada com a consequente morte do paciente, pela alta absorção criptocócica por macrófagos. Desta forma, a fagocitose eficaz predispõe intuitivamente um mal prognóstico após a infecção criptocócica (SABIITI et al., 2014).

Apesar da diferença entre os mecanismos de paracitose, transcitose e “cavalo de tróia”, infere-se que características de cada um deles são observadas e, presumidamente, acontece concomitantemente durante a infecção natural. Contudo, o conhecimento sobre estes processos ainda são muito escassos (CHEN et al., 2014).

4.8 TRATAMENTO

A anfotericina B (AmBd) é de padrão ouro no tratamento de criptococose graves, como no caso da meningoencefalite. A anfotericina B lipossomal tornou-se uma opção de preferência com resultados semelhantes a AmBd para reduzir os efeitos nefrotóxicos é recomendado uma indução primária. Em pacientes com disfunção renal a flucitosina (5-FC) age em associação com a AmBd na terapia de primeira linha no tratamento para meningite criptocócica ou criptococose pulmonar (VAN DER HORST et al., 1997).

Esta associação representa um sistema fungicida mais potente, eliminando mais rapidamente o patógeno, ocorrendo menos recidivas e diminuição do índice de mortalidade atribuível (VAN DER HORST et al., 1997; BRATTON et al., 2013). Além de, beneficiar diretamente a sobrevivência em comparação com monoterapia de AmBd pela monitorização terapêutica no ajuste da dose de 5-FC de para disfunção

renal , a terapia também resulta em uma diminuição do efeito colateral primário da supressão da medula óssea (DAY et al., 2013). Dados demonstram a eficácia na atividade fungicida semelhante, administrando doses baixas de 5-FC em combinação com anfotericina B (O'CONNOR et al., 2013). Ressalta-se que no Brasil a flucitosina não está disponível (MOREIRA, 2005).

Embora, a terapia de indução combinada, seja o método recomendado de primeira escolha para terapia nos casos de criptococose grave, a 5-FC tem disponibilidade limitada, considerando situações em que as taxas de sobrecarga e mortalidade são mais altas (PAPPAS et al., 2009; LOYSE et al., 2012). Neste caso usa-se de terapias alternativas combinadas, como no caso de AmBd e fluconazol em doses mais elevadas, com resultados eficazes, recuperando o sistema neurológico e melhorando as taxas de depuração fúngica, em comparação ao uso isolado de AmBd ou em combinado com doses mais baixas de fluconazol (PAPPAS et al., 2009; LOYSE et al., 2012).

A monoterapia com fluconazol não é recomendada para a meningite, visto que o fármaco possui natureza fungistática, resultando em um aumento nas taxas de resistência e à recaída. Mas considerando locais com indisponibilidade do AmBd, pode-se fazer uso do fluconazol em doses acima de 1200mg/dia. Para meningite criptocócica, o sistema de indução, consolidação e manutenção fazem parte do tratamento padrão em todos os pacientes, independentes dos fatores de risco (NUSSBAUM et al., 2010; PERFECT et al., 2010; VAN DER HORST et al., 1997).

No caso de paciente com HIV/AIDS, o tratamento por indução geralmente se inicia pela terapia combinada, sendo o tratamento consolidado com fluconazol com doses elevadas em um período de 8 semanas para pacientes com resposta favorável. Sugeriu-se também o curso de indução por 6 semanas e a terapia de consolidação (erradicação) na meningite por *C. gattii*, sem considerar o estado do sistema imune do paciente, justamente pela severidade do quadro das doenças neurológicas nestes pacientes. Em geral o tratamento da infecção por *C. gattii* não deve ser diferente ao do tratamento da infecção por *C. neoformans*. Após este período de consolidação, é iniciada a supressão por um prazo mais longo com fluconazol de 200 a 400 mg/dia (CHEN, MEYER e SORREL, 2014; CHEN et al., 2013; FRANCO-PAREDES et al., 2015).

A inclusão desta interpelação possibilitou a redução das taxas de recidiva de aproximadamente 40% para menos de 5% em doentes com imunossupressão

grave. Depois de 1 a 2 anos de tratamento antifúngico, a profilaxia secundária é interrompida em pacientes que tem aumento da contagem de células CD4+ para mais de 100 células/ μ L e a diminuição da carga viral de HIV para níveis indetectáveis num período de pelo menos 3 meses, devido o uso de terapias antirretrovirais (PERFECT et al., 2010; VIBHAGOOOL et al., 2003; MUSSINI et al., 2004).

Terapia combinada tripla com anfotericina B, flucitosina e itraconazol para meningite criptocócica e o uso de voriconazol pra infecções fungicas refratárias, incluindo criptococose foram definidas como sucesso, segundo um estudo recente (PERFECT et al.,2003). Embora outros estudos avaliaram resposta no âmbito clínico (sinais e sintomas) e outros no âmbito micológico (cultura de sangue e líquido cefalorraquidiano negativos) (PITISUTTITHUM et al., 2005, apud COKER et al., 1995). Entretanto, há estudos demonstrando que, formulações de AmB, itraconazol, fluconazol e cetoconazol têm um histórico muito fraco para o tratamento de infecções a nível cerebral e sugere ainda uma resposta relativamente fraca para o tratamento com voriconazol de meningite criptocócica refratária, com uma taxa de sucesso de 39%, mas os pacientes avaliados que apresentavam doença estável. Desta forma, o tratamento não foi considerado um sucesso (PERFECT et al.,2003).

4.8.1 TEMPO DA TERAPIA ANTI-RETROVIRAL

Na associação da infecção criptocócica a infecção por HIV, a terapia antirretroviral (TAR) tem um grande impacto no prognóstico de longo prazo. Entretanto, estudos tem sugerido um risco aumentado de Síndrome Inflamatória da Reconstituição Imunológica (SIRI), em pacientes com vírus HIV iniciados com TAR, após o diagnóstico de infecção oportunista (SHELBURNE et al., 2005; LORTHOLARY et al., 2005; BISSON et al., 2013).

O Teste de Cronologia Óptica de TAR Otimizada (COAT), recentemente concedeu algumas diretrizes definitivas para retardar o início de TAR em pacientes com meningite criptocócica em um período de no mínimo 4 semanas após o começo da terapia antifúngica. Uma melhor sobrevida destes pacientes com meningite

criptocócica foi verificada em estudo randomizado, após o adiamento de até 5 semanas para início da TAR depois deste indivíduos serem diagnosticados, em comparação com a TAR imediata entre as duas primeiras semanas (BOULWARE et al., 2014). Apesar de observada as taxas aumentadas de SIRS com TAR prévio não atingirem dados estatísticos significantes, os marcadores de ativação de macrófagos cresceram neste grupo precoce, propondo que SIRS subclínica ou compartimentalizada pode acontecer e influenciar a mortalidade (SCRIVEN et al., 2015; BOULWARE et al., 2014).

4.9 EPIDEMIOLOGIA

A espécie *C. gattii* é prevalente em zonas rurais, embora estudos tenham demonstrado o isolamento dessa espécie em árvores urbanas. A espécie de levedura tem associação às determinadas árvores como, por exemplo, o eucalipto. Geralmente a espécie é encontrada em regiões tropicais e subtropicais e atinge principalmente imunocompetentes (KIDD et al., 2004; RODRÍGUEZ-CERDEIRA, et al., 2014). Enquanto *C. neoformans* prevalente em climas temperados, áreas urbanas frias e solos contaminados com fezes de aves. Possui distribuição universal e os indivíduos imunodeprimidos são mais acometidos (KIDD et al., 2004).

Existem algumas diferenças entre *C. gattii* e *C. neoformans*. A primeira diferença diz respeito à ecologia das espécies, com *C. neoformans* encontrado principalmente no solo contaminado por fezes de aves (*Columba livia*) e que apresentem uma distribuição universal, enquanto o principal nicho de *C. gattii* são as cavidades de eucaliptos, razão pela qual a infecção da espécie *C. gattii* ocorre principalmente em regiões tropicais e subtropicais (CHEN et al., 2000).

Vários autores notaram a propagação da infecção pela espécie *C. gattii*, uma vez que houve um surto na ilha de Vancouver, Canadá, o noroeste do Pacífico e do sudeste dos Estados Unidos, indicando que esta levedura mostra uma adaptação a um clima temperado. Estudos demonstram a universalidade ecológica com relação ao nicho ambiental devido a presença de pombos em vários ambientes, inclusive ambientes urbanos, tornando esses agentes ubíquos. Outro sistema que pode

compreender a ecologia desses agentes é o estudo de insetos e substratos para disseminação de fungos e leveduras (JESUS et al.,2012; KIDD et al., 2004). Dados epidemiológicos descritos confirmam a prevalência da infecção *C. neoformans* em todo o mundo segundo estudos epidemiológicos assim como relação direta com imunodeficiência (PERFECT et al.,2010).

4.9.1 EPIDEMIOLOGIA IBERO AMERICANA

Testes realizados no Brasil, Argentina, Chile, Colômbia, México, Peru, Venezuela, Guatemala e Espanha, analisaram por método molecular um total de 340 amostras de *Cryptococcus neoformans*, sendo 67 isolados do meio ambiente, 7 em animais e 266 isolados clínicos (1961 a 2000) (Tabela 1). Amostras de pacientes com AIDS somam 177 isolados clínicos, entre estes isolados avaliou-se a presença de 86% do sorotipo A, 7,4% do sorotipo AD híbrido, 3,4% do sorotipo D, e os restantes 2,8% dos sorotipos B e C (Gráfico 1) (MEYER et al., 2003).

Tabela 1: Total de isolados de *Cryptococcus neoformans* de amostras clínicas, veterinárias e ambientais, incluindo a Espanha (1961 a 2000) (MEYER et al., 2003).

PAÍSES	AMOSTRAS CLÍNICAS	AMOSTRAS AMBIENTAIS	AMOSTRAS VETERINÁRIAS	TOTAL DE AMOSTRAS
ARGENTINA	53	04	-	57
BRASIL	56	09	01	66
CHILE	15	04	-	19
COLOMBIA	39	23	-	62
GUATEMALA	15	-	-	15
MÉXICO	46	23	-	69
PERU	13	-	-	13
ESPANHA	09	04	06	19
VENEZUELA	20	-	-	20
TOTAL	266	67	07	340

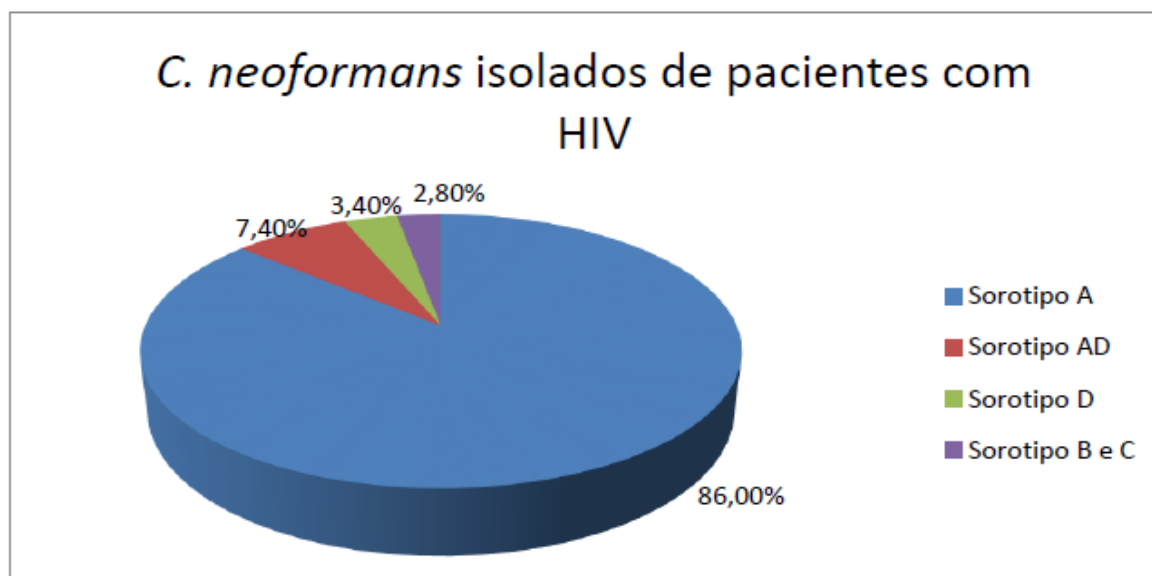


Gráfico 1: Dados obtidos de estudos realizado no Brasil, Argentina, Chile, Colômbia, México, Peru, Venezuela, Guatemala e Espanha com amostras de pacientes com HIV/AIDS (1961 a 2000) (MEYER et al., 2003).

4.9.2 EPIDEMIOLOGIA NA AMÉRICA DO SUL

Um total de 100 amostras biológicas isoladas obtidas no Brasil, Venezuela e Chile foram analisadas e identificadas a partir de análise bioquímica e micromorfológica. Sendo dessas amostras 60 colhidas de paciente HIV positivo, e 40 de outros pacientes. O estudo permitiu verificar que 89 isolados foram identificados como *C. neoformans* variante *neoformans* e 11 identificados como *C. neoformans* variante *gattii*. De 62 isolados de *C. neoformans* variante *neoformans*, 60 (96,8%) são de sorotipo A, enquanto que dos 11 *C. neoformans* variante *gattii* 09 são sorotipo B. Observou-se neste estudo a presença do sorotipo AD apenas em amostras isoladas do Chile (CALVO et al., 2001).

Além dos dados anteriores, no ano de 1987 a 2004 foram isolados 247 amostras ambientais e 178 clínicas em cinco regiões da Colômbia. Ressaltamos um traçado do perfil clínico, o que verificou 91,1% dos isolados do sorotipo A, 8,4% sorotipo B, 0,5% sorotipo C, enquanto o perfil ambiental verificou-se os sorotipos A com 44,2%, o sorotipo B com 42,6% e C (13,2%) (Gráfico 2). Nestes isolados não identificaram os sorotipos AD ou D (GULLO et al., 2013).

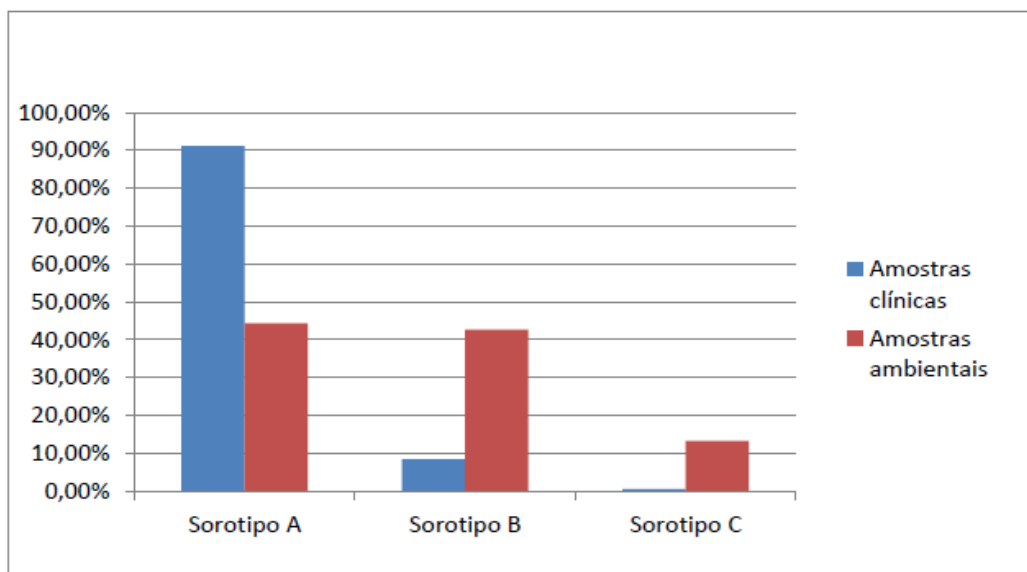


Gráfico 2: Sorotipos de *C. Neoformans* identificados no período entre 1987 e 2001 em cinco regiões da Colômbia. Não foram isolados sorotipos AD ou D. (GULLO et al., 2013).

Um estudo realizado entre 1998 e 2010 no Hospital Universitário de Uberaba no estado de Minas Gerais, Brasil, a partir de prontuários médicos laboratoriais, foi observado um total de 163 amostras diferentes recuperadas de 131 pacientes com HIV diagnosticados com infecção por *Cryptococcus*. O nível da infecção por HIV foi avaliada pelos métodos de ELISA (Welcozyme, Dartford, Oxford, Reino Unido) e confirmados pelo método de Western Blot (MORA et al., 2011).

Destes 131 pacientes com criptococose, 107 foram identificados a partir de amostras de líquido, sendo que quatro deles apresentavam recidiva clínica. Dos 107 isolados, 102 (94,4%) tiveram como agente causador o *C. neoformans* e cinco (5,6%) causados por *C. gattii* (MORA et al., 2011). Destes 131 pacientes, 119 (90,83%) estavam com AIDS e 69,46% eram homens com idade média de 38,7 anos. A meningite criptocócica foi diagnosticada em 103 (78,6%) casos, percebido a disseminação da doença em 29 (30,85%) dos 94 pacientes com AIDS e com meningite criptocócica. A análise laboratorial em amostras de sangue, urina e BAL verificou a presença de *C. neoformans* em 14 (48,27%), 09 (31,03%) e 05 (17,24%) casos, respectivamente. Entre eles, oito pacientes apresentaram cultura positiva em

três ou mais locais, e um paciente masculino sem AIDS apresentava meningite causada por *C. gattii*, e este, evoluiu para criptococose disseminada (Quadro 1) (MORA et al., 2011).

Quadro 1: Diagnóstico de criptococose em 131 pacientes de acordo com o local da infecção (1998 e 2010).

Sítio Testes	LCR	Sangue	Urina	Pulmão	Pele
Tinta Nanquim	90,8	37	78,6	62,5	50
Cultura	100	100	100	100	100
CrAG	88,4	-	-	-	-
TOTAL	279,2	137	178,6	162,5	150

CrAG: antígeno criptocócico; LCR: líquido cefalorraquidiano. Dados em %.(MORA et al., 2011).

Os pacientes com HIV e diagnosticados com MC (meningite criptocócica) somam 94 (91,26%) e tiveram a criptococose como a primeira a definir a AIDS em 61 (64,9%), enquanto 37 (60,65%) foram diagnosticados simultaneamente no instante da admissão. Observou a ocorrência de infecções oportunistas antes do diagnóstico criptocócico em 33 (35,1%) pacientes, enquanto 39 (41,5%) já faziam o uso de TAR. Sintomas clínicos como alteração do estado mental, dor de cabeça, convulsões e papiledema na internação foram associadas estatisticamente a um resultado ruim em pacientes com MC (MORA et al., 2011).

4.9.3 EPIDEMIOLOGIA EM REGIÕES COMO A EUROPA, AMÉRICA DO NORTE E ÁFRICA

4.9.3.1 EPIDEMIOLOGIA EM UGANDA

Um estudo realizado no Hospital - Mulago Hospital Nacional de Referência e Ensino, em Kampala, Uganda, envolveu 1500 leitos considerando pacientes internados e pacientes ambulatoriais em tratamento. Os pacientes do estudo foram admitidos nas enfermarias e no ambulatório de HIV entre dezembro de 2009 e março de 2010. Destes 1500, foram selecionados 1.146 pacientes (OYELLA et al., 2012).

Para a pesquisa foram usados critérios como o fato dos pacientes serem nativos, portadores de HIV positivos, considerando os pacientes com contagens de CD4 + ≤ 100 células / mm³, sem história prévia de criptococose e que não estavam recebendo tratamento com fluconazol, além da avaliação para verificar os sinais clínicos correspondentes à meningite (OYELLA et al., 2012).

Dos pacientes examinados 370 corresponderam aos critérios exigidos. (Figura 6), sendo admitidos no hospital um total de 367 doentes com uma média de CD4 + contagem de 23 células / mm³. A média de idade dos pacientes foi de 32 anos, havendo (52%) de mulheres e (48%) homens, constituindo (45%) dos participantes casados, (52%) com ensino primário completo, e, (77%) residentes em áreas urbanas. Um total de 97,3% dos participantes eram pacientes internados, e 2,7% eram pacientes ambulatoriais (OYELLA et al., 2012).

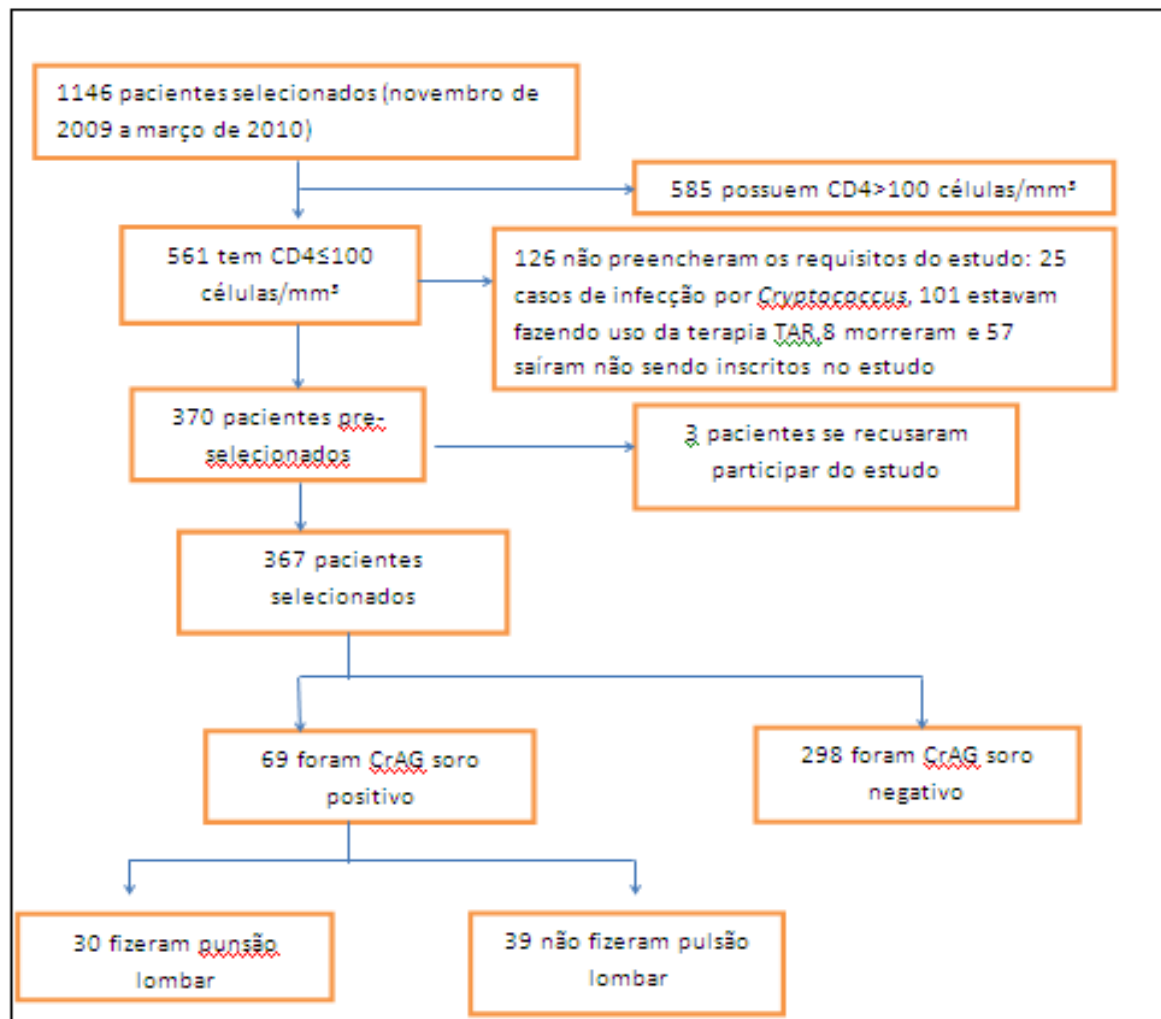


Figura 6: Estudo do perfildos pacientes na admissão no Hospital- Mulago Hospital Nacional de Referência e Ensino, em Kampala, Uganda (OYELLA et al., 2012).

Testes microbiológicos como o exame a fresco com tinta da China e culturas para *C. neoformans* foram realizados em pacientes positivos para o antígeno criptocócico sérico, usado como critério para tratamento. Foram realizadas punções lombares para excluir a meningite criptocócica, mas 43,5% dos pacientes com teste positivo criptocócico concordaram em fazer a punção. Os testes realizados demonstraram que 24 pacientes eram positivos para meningite criptocócica, três possuíam antigenemia criptocócica isolada e três não receberam classificação devido a resultados incompletos. Os pacientes diagnosticados foram tratados conforme sua clínica, não sendo dado nenhum outro seguimento (OYELLA et al., 2012).

4.9.3.2 EPIDEMIOLOGIA EM MALAWI

Uma avaliação realizada em uma clínica em Hope, em Lilongwe, no Malawi determinou a prevalência de infecção criptocócica em pacientes recentemente infectados pelo HIV e iniciando a terapia anti-retroviral (TAR) com CD4 <100 células/mL ou em pessoas com HIV / AIDS na terceira ou quarta fase da doença segundo critérios da OMS (Organização Mundial de Saúde) e para determinar a aceitabilidade e viabilidade de iniciar um programa de rastreio pelo CrAg (CHIFUNDO CHIPUNGU et al., 2015).

O estudo avaliou 552 pacientes que se apresentaram à clínica no período de 07 meses para realizar o tratamento contra HIV. Destes, 176 foram transferidos e já se encontravam em tratamento e não foram rastreados. Os 376 pacientes restantes receberam o primeiro tratamento e destes, 258 foram selecionados para o estudo e 113 foram escolhidos. Todos os 113 escolhidos aceitaram a se submeter a triagem por CrAg. Dentre os 113 escolhidos, o número de mulheres era de 53 (46,9%) e 60 (53,1%) de homens, com média de idade de 36,4 anos. Destes, 08 eram pacientes clínicos de HIV / AIDS em fase I da OMS (7,1%), 05 pacientes com estágio clínico de HIV / AIDS II (4,4%), 80 pacientes com HIV / AIDS em fase III (70,8%) AIDS IV (17,7%); A contagem média de CD4 era de 124 células / mL (Tabela 2). Dos 113 pacientes selecionados, 02 pacientes foram CrAg positivo, sendo que a prevalência total de CrAg para todos os pacientes no estudo foi de 2/113 ou 1,8% (CHIFUNDO e ECHIPUNGU et al., 2015).

Tabela 2: Características dos Pacientes Recém-Inscritos em uma Clínica de HIV / AIDS Malawiana e Prevalência de CrAg com Contagem de CD4 <100 Células / mL ou Estágio I ou IV Clínico de HIV / AIDS da OMS (CHIFUNDO CHIPUNGU et al., 2015)

	#	%	Frequência de CrAg+	Prevalência CrAg + (%)
Total de selecionados	113	100	02	1,8
Sexo				
Feminino	53	46,9	01	1,9
Masculino	60	53,1	01	1,7
Estágio clínico segundo OMS em HIV / AIDS				
I	8	7,1	0	0
II	5	4,4	0	0
III	80	70,8	01	1,3
IV	20	17,7	01	5,0
Contagem de CD4: ≥ 100 células / mL	56	49,6	0	0
Contagem de CD4: <100 células / mL	57	50,4	02	3,5

Abreviaturas: (CrAg) antígeno criptocócico; (OMS), Organização Mundial de Saúde. (CHIFUNDO CHIPUNGU et al., 2015).

4.9.3.3 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS EM VÁRIAS REGIÕES DA ÁFRICA SUBSAARIANA

Em um estudo excepcional considerado um marco de 2009, os Centros de Controle e Prevenção (CDC) estimaram a MC associada ao HIV baseando nos dados disponíveis de incidência de indivíduos infectados pelo HIV em várias regiões. Conforme o CDC estima-se a incidência de MC em cerca de um milhão de casos por ano, atingindo a possível marca de até 500.000 mortes por ano só na África Sub-Saariana (PARK et al., 2009). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) outros dados sugerem o número de mortes entre 10 a 15% causadas por criptococose (chegando a atingir 2,3 milhões de pessoas) (FRENCH et al., 2002).

Outra análise atualizada feita por Boulware e colaboradores tem usado uma abordagem diferente, baseando-se no número de pacientes em risco (com células T

CD4 +Contagens <100 células/ μ L) sem considerar o anti-retrovirais eficazes (TAR), no risco de progressão do MC e na prevalência de antigenemia criptocócica. Esta nova análise indica um número menor de mortes relativas ao MC, mas deduzem que MC cause 140 mil mortes por ano, sendo 102.000 relatados na África, e propõe que a MC representa 17% da mortalidade relacionada com a AIDS (WILLIAMSON et al., 2016, Apud BOULWARE et al, 2014).

A vigilância criptocócica têm sido realizada desde o início dos anos 2000 na África do Sul, onde ocorreu uma diminuição modesta da incidência entre 2005 e 2009 (INSTITUTO NACIONAL DE DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS. RAPIDGERMS RELATÓRIO ANUAL DA ÁFRICA DO SUL, 2014).

Em lugares que dispõe de mais recursos e programa TAR como em Botswana, a vigilância nacional relata um aumento no número de casos de criptococose desde o ano de 2011, possivelmente estimulado pelo número de pacientes que não fizeram o tratamento de forma adequada (TENFORDE et al., 2016).

Mesmo o número total de casos de MC permanecendo relativamente estáticos, a gestão do MC é difícil pelo fato de que em muitos centros metade dos pacientes com MC apresentam-se com história de uso de TAR, mas com insistentes baixas contagens de células T CD4 +, pela provável falha no acompanhamento, não-adesão ou pelo desenvolvimento de resistência TAR (Harrison, T. et al., Inscrição não publicada Dados do ensaio ACTA, ISRCTN 45035509) (BEARDSLEY et al., 2016).

4.9.3.4 EPIDEMIOLOGIA NOS ESTADOS UNIDOS

Nos Estados Unidos na década de setenta, por ano foram confirmados 338 casos de pacientes neste período, índices seguidos por uma explosão de casos com o surgimento de uma pandemia da AIDS e um declínio com a implantação da terapia antirretroviral (PYRGOS et al., 2013).

Usou-se de dados dos bancos estaduais de pacientes internos da Agência de Pesquisa e Qualidade em Saúde (AHRQ) para compreender o impacto da doença

criptocócica nos Estados Unidos a partir da implantação da terapia antirretroviral, com objetivo de descrever a incidência de hospitalizações vinculadas à meningite criptocócica, que é a forma mais grave da criptococose, no período de 1997 a 2009 (PYRGOS et al., 2013).

Um total de 30.840 hospitalizações por meningite criptocócica foram registradas em um período de 13 anos, com um total de 1827 hospitalizações computadas em 2009. Foram associados com HIV, 24.151 destes pacientes, ou seja, 79.4%. Baseando em dados do censo estadual dos EUA em 2003, estando incluso nesta análise aproximadamente 53,5% da população do país no período, com valor estimado para 3.400 hospitalizações associadas com MC anualmente nos EUA, considerando a extrapolação de dados para uma população de 307 milhões do país no último ano de estudo (2009), (PYRGOS et al., 2013).

Nos estados da Flórida, Maryland, Geórgia e na cidade de Nova York a prevalência pela infecção por HIV é maior, seguida das maiores taxas de MC associadas ao HIV, apesar de evidencia de altas taxas de hospitalizações na região sudeste dos EUA (média de 19,4 hospitalizações), (Figura 7), (PYRGOS et al., 2013).

4.9.3.4.1 Tendências da hospitalização total

Ao longo do período de estudos, diminuíram as internações por MC na população de pacientes infectados pelo HIV, com 16,6 hospitalizações/milhão de população total em 1997 para 7,7 em 2009 (queda de 53,6%), com a variação anual percentual declínio de -5,8% (Gráfico 3). Sugerindo que a diminuição do MC não se deve exclusivamente à redução geral das hospitalizações por HIV. Os homens predominaram entre os pacientes hospitalizados com meningite criptocócica, somam 78,2% e as taxas de hospitalização por milhão de população total atingiram o pico na faixa etária de 31 a 40 anos (PYRGOS et al., 2013).

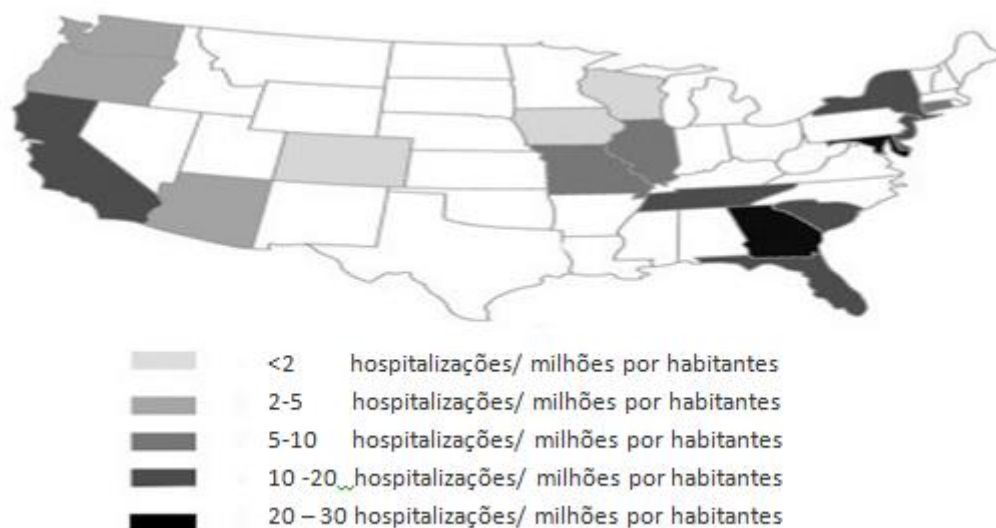


Figura 7: Incidência geográfica de MC. Mapa dos Estados Unidos mostrando e destacando os estados que relatam ao ARHQ continuamente durante o período do estudo e sua incidência de MC em hospitalizações associadas ao HIV. (PYRGOS et al., 2013).

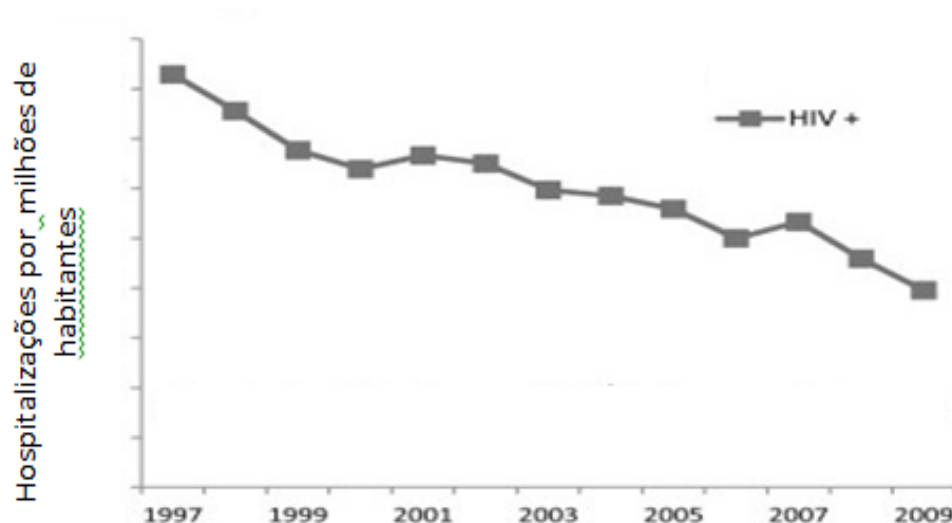


Gráfico 3:. Hospitalizações para MC nos EUA. Hospitalização por MC por milhão de população em pacientes infectados pelo HIV. (PYRGOS et al., 2013).

A incidência de mortalidade intrahospitalar diminuiu ao longo do período de estudo, em doentes infectados pelo HIV (Gráfico 4) (PYRGOS et al., 2013).

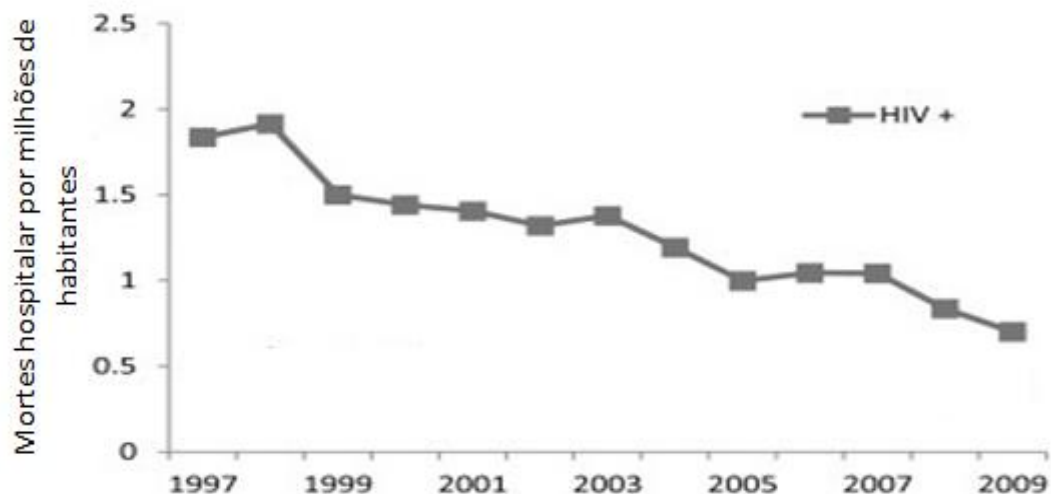


Gráfico 4.: Mortalidade hospitalar por milhão de população em pacientes infectados pelo HIV. Doi: 10.1371 / journal.pone.0056269.g002.(PYRGOS et al., 2013).

Conforme um estudo americano realizado no continente europeu e na América do Norte, ocorreu uma redução drástica no número de casos de criptococose após a introdução de TAR eficaz. Além disso, o número de hospitalizações diminuiu pela metade (PYRGOS et al., 2013).

5 CONCLUSÃO

A criptococose é uma doença grave que desafia a comunidade médica e cientista, por se tratar de uma infecção que tem como característica a capacidade de escapar das células que compõem o sistema fagocítico, dentre outros fatores de virulência favorecendo a sua disseminação no organismo do hospedeiro, e por ser uma doença oportunista, confirmando sua prevalência a indivíduos infectados por HIV, agravando assim, a condição clínica do indivíduo acometido.

Embora com status de gravidade essa doença não tem notificação obrigatória, sendo poucas as estimativas verdadeiras sobre a distribuição geográfica e prevalência. Observou também uma redução na incidência global da criptococose devida o uso de terapia antirretroviral altamente ativa, mas mesmo com essa redução, o registro de óbitos é elevado.

A forma mais grave da doença, a meningite criptocócica, seguida de lesões cutâneas, ainda é a uma das maiores causas de mortalidade e morbidade em pacientes com HIV/AIDS, principalmente em países que detém recursos reduzidos para tratar esses pacientes de forma adequada. O diagnóstico melhorado como a pesquisa de antígeno polissacarídeo capsular criptocócico e pesquisa por tinta nanquim tem favorecido no diagnóstico deste agente, acrescentado à introdução de Terapia Retroviral para amenizar os sintomas e reduzir a carga viral destes pacientes.

Dentre os tratamentos citamos o uso da Anfotericina B, considerada como padrão ouro no tratamento de meningite e a associação de outras de drogas antifúngicas juntamente com acompanhamento desses pacientes favorecendo melhor sobrevida, reduzindo também a severidade da doença.

A prevalência da criptococose em pacientes com HIV nos Estados Unidos é demonstrada segundo dados computados em 2009, no período de 13 anos, onde registrou-se 24.151 hospitalizações por meningite criptocócica associadas ao HIV, dando ênfase para os estados da Flórida, Maryland, Geórgia e na cidade de Nova York.

Segundo dados do CDC em 2009 a incidência de mortes por causa da MC na África Sub-Saariana chega a 500.000 por ano. A vigilância criptocócica têm sido

realizada desde o início dos anos 2000 na África do Sul, onde viu a diminuição modesta da incidência entre 2005 e 2009.

Verificou-se que mesmo em lugares com mais recursos e programas TAR como em Botswana, é relatado um aumento de números de casos de criptococose desde o ano de 2011. Esse número aumentado se deve provavelmente aos indivíduos que não fizeram o tratamento de forma adequada.

Há registro de casos criptococose em países da América do Sul, incluindo o Brasil onde foram verificados a presença de sorotipos de *Cryptococcus* spp.

O fato de este fungo ser ubíquo favorece sua disseminação e prevalência da doença no globo, pois segundo a Organização Mundial de Saúde, o número de mortes causadas por criptococose alcança 2,3 milhões de pessoas no mundo.

Ações permanentes e constantes devem ser empregadas no acompanhamento e tratamento dos indivíduos acometidos com a criptococose, favorecendo sua melhor sobrevida, auxiliando na redução dos sintomas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALANIO, Alexandre et al. *Cryptococcus neoformans* host adaptation: toward biological evidence of dormancy. **MBio**, v. 6, n. 2, p. e02580-14, 2015.

ALVAREZ, Mauricio; CASADEVALL, Arturo. Phagosome extrusion and host-cell survival after *Cryptococcus neoformans* phagocytosis by macrophages. **Current Biology**, v. 16, n. 21, p. 2161-2165, 2006.

ALVAREZ, Mauricio; CASADEVALL, Arturo. Cell-to-cell spread and massive vacuole formation after *Cryptococcus neoformans* infection of murine macrophages. **BMC Immunology**, 8.1: 1. 2007

ANGKASEKWINAI, Pornpimon et al. *Cryptococcus gattii* infection dampens Th1 and Th17 responses by attenuating dendritic cell function and pulmonary chemokine expression in the immunocompetent hosts. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 9, p. 3880-3890, 2014

ANTINORI, Spinello. New insights into HIV/AIDS-associated cryptococcosis. **Isrn Aids**, 2013, 2013

ARMSTRONG-JAMES, Darius; MEINTJES, Graeme; BROWN, Gordon D. A neglected epidemic: fungal infections in HIV/AIDS. **Trends in Microbiology**, v. 22, n. 3, p. 120-127, 2014.

BEARDSLEY, Justin, et al. Adjunctive dexamethasone in HIV-associated cryptococcal meningitis. **New England Journal of Medicine**, 374.6: 542-554, 2016.

BICANIC, Tihana et al. Independent association between rate of clearance of infection and clinical outcome of HIV-associated cryptococcal meningitis: analysis of a combined cohort of 262 patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 5, p. 702-709, 2009.

BISSON, Gregory P., et al. Early versus delayed antiretroviral therapy and cerebrospinal fluid fungal clearance in adults with HIV and cryptococcal meningitis. **Clinical Infectious Diseases**, 56.8: 1165-1173, 2013.

BLISKA, James B.; CASADEVALL, Arturo. Intracellular pathogenic bacteria and fungi—a case of convergent evolution?. **Nature Reviews Microbiology**, 7.2: 165-171, 2009.

BOULWARE, David R., et al. Timing of antiretroviral therapy after diagnosis of cryptococcal meningitis. **New England Journal of Medicine**, 370.26: 2487-2498, 2014.

BRASIL.Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais.**Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV**.Brasília, dezembro de 2013

BRATTON, Emily W., et al. Approaches to antifungal therapies and their effectiveness among patients with cryptococcosis. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 57.6: 2485-2495, 2013.

BROUWER, Annemarie E., et al. Combination antifungal therapies for HIV-associated cryptococcal meningitis: a randomised trial. **The Lancet**, 363.9423: 1764-1767, 2004.

CALVO, Belinda M. et al. Antifungal susceptibilities, varieties, and electrophoretic karyotypes of clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* from Brazil, Chile, and Venezuela. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 6, p. 2348-2350, 2001

CASADEVALL, Arturo. Cryptococci at the brain gate: break and enter or use a Trojan horse?. **The Journal of Clinical Investigation**,120.5: 1389-1392,2010.

CHANG, Yun C., et al. Cryptococcal yeast cells invade the central nervous system via transcellular penetration of the blood-brain barrier. **Infection and Immunity**, , 72.9: 4985-4995, 2004.

CHARLIER, Caroline, et al. Evidence of a role for monocytes in dissemination and brain invasion by *Cryptococcus neoformans*. **Infection and Immunity**, 77.1: 120-127, 2009.

CHAYAKULKEEREE, Methee; PERFECT, John R. Cryptococcosis. **Infectious Disease Clinics**, 20.3: 507-544, 2006.

CHEN, Sharon, et al. Epidemiology and host-and variety-dependent characteristics of infection due to *Cryptococcus neoformans* in Australia and New Zealand. **Clinical Infectious Diseases**, 31.2: 499-508, 2000.

CHEN, Steven HM, et al. *Cryptococcus neoformans* induces alterations in the cytoskeleton of human brain microvascular endothelial cells. **Journal of Medical Microbiology**, 52.11: 961-970, 2003.

CHEN, Sharon C.-A., et al. Antifungal therapy and management of complications of cryptococcosis due to *Cryptococcus gattii*. **Clinical Infectious Diseases**, 57.4: 543-551, 2013.

CHEN, Yuan, et al. The *Cryptococcus neoformans* transcriptome at the site of human meningitis. **MBio**, 5.1: e01087-13, 2014.

CHEN, Sharon C.-A.; MEYER, Wieland; SORRELL, Tania C. *Cryptococcus gattii* infections. **Clinical Microbiology Reviews**, 27.4: 980-1024, 2014.

CHRÉTIEN, Fabrice et al. Pathogenesis of cerebral *Cryptococcus neoformans* infection after fungemia. **Journal of Infectious Diseases**, v. 186, n. 4, p. 522-530, 2002.

CHRISTIANSON, John C.; ENGBER, William; ANDES, David. Primary cutaneous cryptococcosis in immunocompetent and immunocompromised hosts. **Medical Mycology**, 41.3: 177-188, 2003.

COELHO, Carolina; BOCCA, Anamelia L.; CASADEVALL, Arturo. The intracellular life of *Cryptococcus neoformans*. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, 9: 219-238. 2014

COLOMBO, Ana Caroline; RODRIGUES, Marcio L. Fungal colonization of the brain: anatomopathological aspects of neurological cryptococcosis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, AHEAD: 00-00, 2015.

DAY, Jeremy N., et al. Combination antifungal therapy for cryptococcal meningitis. **New England Journal of Medicine**, 368.14: 1291-1302, 2013.

EL FANE, M., et al. La cryptococcose au cours de l'infection à VIH. **Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology**, 25.4: 257-262, 2015.

EVANS, Robert J., et al. Cryptococcal phospholipase B1 is required for intracellular proliferation and control of titan cell morphology during macrophage infection. **Infection and Immunity**, 83.4: 1296-1304, 2015.

FRANCO-PAREDES, Carlos, et al. Management of *Cryptococcus gattii* meningoencephalitis. **The Lancet Infectious Diseases**, 15.3: 348-355, 2015.

FRENCH, Neil, et al. Cryptococcal infection in a cohort of HIV-1-infected Ugandan adults. **Aids**, 16.7: 1031-1038, 2002.

GERSTEIN, Aleeza C. et al. Polyploid titan cells produce haploid and aneuploid progeny to promote stress adaptation. **MBio**, v. 6, n. 5, p. e01340-15, 2015.

GULLO, F. P. et al. Cryptococcosis: epidemiology, fungal resistance, and new alternatives for treatment. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 32, n. 11, p. 1377-1391, 2013

HAGEN, Ferry et al. Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. **Fungal Genetics and Biology**, v. 78, p. 16-48, 2015.

HUANG, Sheng-He, et al. *Cryptococcus neoformans*-derived microvesicles enhance the pathogenesis of fungal brain infection. **PloS one**, 7.11: e48570, 2012.

HURD, Yasmin L.; SUZUKI, Michio; SEDVALL, Göran C. D1 and D2 dopamine receptor mRNA expression in whole hemisphere sections of the human brain. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 22, n. 1, p. 127-137, 2001.

JESUS, Mariana Santos de et al. Cryptococcus neoformans carried by Odontomachus bauri ants. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 4, p. 466-469, 2012.

JARVIS, Joseph N. et al. Evaluation of a novel point-of-care cryptococcal antigen test on serum, plasma, and urine from patients with HIV-associated cryptococcal meningitis. **Clinical Infectious Diseases**, p. cir613, 2011.

KABANDA, Taseera, et al. Point-of-care diagnosis and prognostication of cryptococcal meningitis with the cryptococcal antigen lateral flow assay on cerebrospinal fluid. **Clinical Infectious Diseases**, 58.1: 113-116, 2014.

KECHICHIAN, Talar B.; SHEA, John; DEL POETA, Maurizio. Depletion of alveolar macrophages decreases the dissemination of a glucosylceramide-deficient mutant of Cryptococcus neoformans in immunodeficient mice. **Infection and Immunity**, 75.10: 4792-4798, 2007.

KIDD, S. E. et al. A rare genotype of Cryptococcus gattii caused the cryptococcosis outbreak on Vancouver Island (British Columbia, Canada). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 49, p. 17258-17263, 2004.

KNOKE, M.; SCHWESINGER, G. One hundred years ago: the history of cryptococcosis in Greifswald. Medical mycology in the nineteenth century. **Mycoses**, v. 37, n. 7-8, p. 229-233, 1994

KRONSTAD, James W., et al. Expanding fungal pathogenesis: Cryptococcus breaks out of the opportunistic box. **Nature Reviews Microbiology**, 9.3: 193-203, 2011.

LEE, Sunhee C.; DICKSON, Dennis W.; CASADEVALL, Arturo. Pathology of cryptococcal meningoencephalitis: analysis of 27 patients with pathogenetic implications. **Human Pathology**, v. 27, n. 8, p. 839-847, 1996.

LIU, Lide et al. Catecholamine oxidative products, but not melanin, are produced by Cryptococcus neoformans during neuropathogenesis in mice. **Infection and Immunity**, v. 67, n. 1, p. 108-112, 1999.

LIU, Tong-Bao; PERLIN, David S.; XUE, Chaoyang. Molecular mechanisms of cryptococcal meningitis. **Virulence**, 3.2: 173-181, 2012.

LIU, Tong-Bao, et al. Brain inositol is a novel stimulator for promoting Cryptococcus penetration of the blood-brain barrier. **PLoS Pathog**, 9.4: e1003247, 2013

LORTHOLARY, Olivier, et al. Incidence and risk factors of immune reconstitution inflammatory syndrome complicating HIV-associated cryptococcosis in France. **Aids**, 19.10: 1043-1049, 2005.

LOYSE, Angela, et al. Comparison of the early fungicidal activity of high-dose fluconazole, voriconazole, and flucytosine as second-line drugs given in combination

with amphotericin B for the treatment of HIV-associated cryptococcal meningitis. **Clinical Infectious Diseases**, 2012, 54.1: 121-128, 2012.

MA, Hansong, et al. Expulsion of live pathogenic yeast by macrophages. **Current Biology**, 16.21: 2156-2160, 2006.

MADURO, A. P. et al. HIV/AIDS-associated cryptococcosis in Portugal spanning the pre-to post-HAART era: a retrospective assessment at the genotypic level based on URA5-RFLP. **Current Microbiology**, v. 71, n. 4, p. 449-457, 2015.

MAGDITCH, Denise A., et al. DNA mutations mediate microevolution between host-adapted forms of the pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. **PLoS Pathog**, 8.10: e1002936, 2012.

MAY, Robin C., et al. *Cryptococcus*: from environmental saprophyte to global pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, 14.2: 106-117, 2016.

MAZIARZ, Eileen K.; PERFECT, John R. Cryptococcosis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, n. 1, p. 179-206, 2016..

MILLAN, Mark J. The neurobiology and control of anxious states. **Progress in Neurobiology**, v. 70, p. 83-244, 2003.

MOMBELLI, Monica Augusta et al. AIDS epidemic in the triple frontier: subsidies for professional practice. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 68, n. 3, p. 429-437, 2015.

MORA, Delio José et al. **Clinical, Epidemiological and Outcome Features of Patients with Cryptococcosis in Uberaba, Minas Gerais, Brazil**. 2011.

MOREIRA, Maria EL. Controvérsias a respeito da sepse fúngica no pré-termo extremo: profilaxia e esquemas terapêuticos. 2005.

MUSSINI, Cristina, et al. Discontinuation of maintenance therapy for cryptococcal meningitis in patients with AIDS treated with highly active antiretroviral therapy: an international observational study. **Clinical Infectious Diseases**, 38.4: 565-571, 2004.

National Institute of Communicable Diseases.RapidGerms South Africa Annual Report 2014.Disponível em: <http://www.nicd.ac.za/assets/files/GERMS-SA%20AR%202014.pdf> [online] pages 8–11 (2014). Acessoem: 11/12/2016.

NOSANCHUK, Joshua D. et al. Melanisation of *Cryptococcus neoformans* in human brain tissue. **The Lancet**, v. 355, n. 9220, p. 2049-2050, 2000.

NUSSBAUM, Jesse C., et al. Combination flucytosine and high-dose fluconazole compared with fluconazole monotherapy for the treatment of cryptococcal meningitis: a randomized trial in Malawi. **Clinical Infectious Diseases**, 50.3: 338-344, 2010.

O'CONNOR, Lucy, et al. Pharmacodynamics of liposomal amphotericin B and flucytosine for cryptococcal meningoencephalitis: safe and effective regimens for immunocompromised patients. **Journal of Infectious Diseases**, jit164, 2013.

OKAGAKI, Laura H., et al. Cryptococcal cell morphology affects host cell interactions and pathogenicity. **PLoSPathog**, 6.6: e1000953, 2010.

OKAGAKI, Laura H.; NIELSEN, Kirsten. Titan cells confer protection from phagocytosis in *Cryptococcus neoformans* infections. **Eukaryotic cell**, 11.6: 820-826, 2012.

OLSZEWSKI, Michal A., et al. Urease expression by *Cryptococcus neoformans* promotes microvascular sequestration, thereby enhancing central nervous system invasion. **The American Journal of Pathology**, 164.5: 1761-1771, 2004

OYELLA, Jacinta et al. Prevalence and factors associated with cryptococcal antigenemia among severely immunosuppressed HIV-infected adults in Uganda: a cross-sectional study. **Journal of the International AIDS Society**, v. 15, n. 1, p. 1, 2012.

PAPPAS, Peter G., et al. A phase II randomized trial of amphotericin B alone or combined with fluconazole in the treatment of HIV-associated cryptococcal meningitis **Clinical Infectious Diseases**, 48.12: 1775-1783, 2009.

PARK, Benjamin J. et al. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. **Aids**, v. 23, n. 4, p. 525-530, 2009.

PERFECT, John R., et al. Voriconazole treatment for less-common, emerging, or refractory fungal infections. **Clinical Infectious Diseases**, 36.9: 1122-1131, 2003.

PERFECT, John R., et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, 50.3: 291-322, 2010.*****

PITISUTTITHUM, Punnee, et al. Activity of posaconazole in the treatment of central nervous system fungal infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 56.4: 745-755, 2005.

PYRGOS, Vasilios et al. Epidemiology of cryptococcal meningitis in the US: 1997–2009. **PloS one**, v. 8, n. 2, p. e56269, 2013.

QIU, Yafeng et al. Immune modulation mediated by cryptococcal laccase promotes pulmonary growth and brain dissemination of virulent *Cryptococcus neoformans* in mice. **PLoSOne**, v. 7, n. 10, p. e47853, 2012.

RAMOS-E-SILVA, Marcia et al. Systemic mycoses in immunodepressed patients (AIDS). **Clinics in Dermatology**, v. 30, n. 6, p. 616-627, 2012.

ROBERTSON, Emma J., et al. Cryptococcus neoformans ex vivo capsule size is associated with intracranial pressure and host immune response in HIV-associated cryptococcal meningitis. **Journal of Infectious Diseases**, 209.1: 74-82, 2014.

RODGERS, R. J.; NIKULINA, Ella M.; COLE, J. Cn. Dopamine D1 and D2 receptor ligands modulate the behaviour of mice in the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 49, n. 4, p. 985-995, 1994.

RODRIGUES, Marcio L. et al. Cleavage of human fibronectin and other basement membrane-associated proteins by a Cryptococcus neoformans serine proteinase. **Microbial Pathogenesis**, v. 34, n. 2, p. 65-71, 2003.

RODRÍGUEZ-CERDEIRA, C. et al. Systemic fungal infections in patients with human immunodeficiency virus. **ActasDermo-Sifiliográficas (EnglishEdition)**, v. 105, n. 1, p. 5-17, 2014.

ROSAS, Ángel L. et al. Synthesis of polymerized melanin by Cryptococcus neoformans in infected rodents. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 5, p. 2845-2853, 2000.

SABIITI, Wilber; MAY, Robin C. Capsule independent uptake of the fungal pathogen Cryptococcus neoformans into brain microvascular endothelial cells. **PloS one**, 7.4: e35455, 2012.

SABIITI, Wilber, et al. Efficient phagocytosis and laccase activity affect the outcome of HIV-associated cryptococcosis. **The Journal of Clinical Investigation**, 124.5: 2000-2008, 2014.

SALAS, S. D. et al. Effect of the laccase gene CNLAC1, on virulence of Cryptococcus neoformans. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 184, n. 2, p. 377-386, 1996.

SCRIVEN, James E., et al. Early ART after cryptococcal meningitis is associated with cerebrospinal fluid pleocytosis and macrophage activation in a multisite randomized trial. **Journal of Infectious Diseases**, jiv067, 2015.

SHELBURNE, Samuel A., et al. Incidence and risk factors for immune reconstitution inflammatory syndrome during highly active antiretroviral therapy. **Aids**, 2005, 19.4: 399-406.

SHI, Meiqing, et al. Real-time imaging of trapping and urease-dependent transmigration of Cryptococcus neoformans in mouse brain. **The Journal of clinical Investigation**, 120.5: 1683-1693, 2010.

STEENBERGEN, J. N.; SHUMAN, H. A.; CASADEVALL, A. Cryptococcus neoformans interactions with amoebae suggest an explanation for its virulence and intracellular pathogenic strategy in macrophages. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 98.26: 15245-15250, 2001.

TENFORDE, M. et al. **HIV-Associated Cryptococcal Meningitis in Botswana: National Incidence and Temporal Trends Following ART Rollout.**

Disponível em: http://www.aids2016.org/Portals/0/File/AIDS2016_Abstracts_LOW.pdf?ver=2016-08-10-154247-087 [online] Abstract presented at: 21st International AIDS Conference; July 2016; Durban. Acesso em 11/12/2016

TERADA, Tadashi. Cryptococcosis in the central nervous system in a 36-year-old Japanese man: an autopsy study. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, 222.1: 33-37, 2010.

VAN DER HORST, Charles M., et al. Treatment of cryptococcal meningitis associated with the acquired immunodeficiency syndrome. **New England Journal of Medicine**, 337.1: 15-21, 1997.

VIBHAGOO, Asda, et al. Discontinuation of secondary prophylaxis for cryptococcal meningitis in human immunodeficiency virus-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy: a prospective, multicenter, randomized study **Clinical Infectious Diseases**, 36.10: 1329-1331, 2003.

VU, Kiem, et al. Invasion of the central nervous system by *Cryptococcus neoformans* requires a secreted fungal metalloprotease. **MBio**, 5.3: e01101-14, 2014.

WARPEHA, Katherine M.; PARK, Yoon-Dong; WILLIAMSON, Peter R. Susceptibility of intact germinating *Arabidopsis thaliana* to human fungal pathogens *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii*. **Applied and Environmental Microbiology**, 79.9: 2979-2988, 2013.

WILLIAMSON, Peter R. et al. Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. **Nature Reviews Neurology**, 2016.

WIESNER, Darin L. et al. Chitin recognition via chitotriosidase promotes pathologic type-2 helper T cell responses to cryptococcal infection. **PLoS Pathog**, v. 11, n. 3, p. e1004701, 2015.

WISE, Roy A.; ROMPRE, Pierre-Paul. Brain dopamine and reward. **Annual Review of Psychology**, v. 40, n. 1, p. 191-225, 1989.

XU, C. Y., et al. Increased permeability of blood-brain barrier is mediated by serine protease during *Cryptococcus* meningitis. **The Journal of International Medical Research**, 42.1: 85-92, 2014

ZARAGOZA, Oscar, et al. Fungal cell gigantism during mammalian infection. **PLoS Pathog**, 6.6: e1000945, 2010.

ZARAGOZA, Oscar. Multiple Disguises for the Same Party: The Concepts of Morphogenesis and Phenotypic Variations in *Cryptococcus neoformans*†. **Frontiers in Microbiology**, 2: 181, 2011.

ZARAGOZA, Oscar; NIELSEN, Kirsten. Titan cells in *Cryptococcus neoformans*: cells with a giant impact. **Current Opinion in Microbiology**, 16.4: 409-413, 2013.

ZOLOPA, Andrew R., et al. Early antiretroviral therapy reduces AIDS progression/death in individuals with acute opportunistic infections: a multicenter randomized strategy trial. **PloSone**, 4.5: e5575, 2009.

.

.