

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS

MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM

DOENÇAS INFECCIOSAS

MARCELA DE FARIA FERREIRA

**PREVALÊNCIA DE ANTIGENEMIA CRIPTOCÓCICA EM
PACIENTES HIV POSITIVOS COM IMUNOSSUPRESSÃO
AVANÇADA ACOMPANHADOS NO INSTITUTO NACIONAL
DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS**

Rio de Janeiro

2016

**PREVALÊNCIA DE ANTIGENEMIA CRIPTOCÓCICA EM
PACIENTES HIV POSITIVOS COM IMUNOSSUPRESSÃO
AVANÇADA ACOMPANHADOS NO INSTITUTO NACIONAL
DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS**

MARCELA DE FARIA FERREIRA

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientadores: Dra Márcia dos Santos Lazéra e Dr. Estevão Portela Nunes

Rio de Janeiro

2016

MARCELA DE FARIA FERREIRA

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

F383 Ferreira, Marcela de Faria

Prevalência de antigenemia criptocócica em pacientes HIV positivos com imunossupressão avançada acompanhados no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas / Marcela de Faria Ferreira. – Rio de Janeiro, 2016.

xii, 70 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2016.

Bibliografia: f. 50-59.

1. Criptococose. 2. HIV. 3. CrAg. 4. LFA. 5. Antigenemia. I. Título.

CDD 616.9792

**PREVALÊNCIA DE ANTIGENEMIA CRIPTOCÓCICA EM
PACIENTES HIV POSITIVOS COM IMUNOSSUPRESSÃO
AVANÇADA ACOMPANHADOS NO INSTITUTO NACIONAL DE
INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS**

Dissertação apresentada
ao curso de Mestrado do
Instituto de Pesquisa
Clínica Evandro Chagas
para obtenção do grau de
Mestre em Ciências.

Orientadores: Prof^ª. Dr^ª Márcia dos Santos Lazéra
Prof. Dr. Estevão Portela Nunes

Aprovado em: / /

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Valdiléa Gonçalves Veloso dos Santos
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação
Oswaldo Cruz – INI/FIOCRUZ

Prof^ª. Dr^ª. Isabel Cristina Fabrega Bonna
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação
Oswaldo Cruz – INI/FIOCRUZ

Prof. Dr. Ricardo Pereira Igreja
Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter saúde para seguir os caminhos que a vida me reserva e à todos os meus familiares e amigos que me deram força, carinho e suporte durante toda minha jornada de formação profissional. Agradeço igualmente aos queridos orientadores, Dra. Marcia Lazéra e Dr. Estevão Portela, que sempre me receberam com palavras de incentivo, bom humor e calma nos meus inúmeros momentos de nervosismo e dúvidas, me deixando mais confiante para seguir em frente. Agradeço à querida revisora, Dra. Isabel Bonna, pela paciência, atenção e dedicação. Agradeço ao Dr. Bodo, à Dra. Luciana Trilles, à Rosani Reis, ao Fabio Brito e à todas as pessoas queridas do laboratório de micologia ambiental, diagnóstico micológico e imunodiagnóstico que me receberam da melhor forma em um espaço, até então, estranho para mim e que foi de suma importância, não apenas para concluir esta dissertação, mas principalmente para aprimorar meus conhecimentos. Agradeço à toda equipe do setor hospitalar, ambulatorial e hospital-dia que com compreensão, companheirismo e profissionalismo me ajudaram a construir este projeto.

Ferreira, MF. **Prevalência de antigenemia criptocócica em pacientes HIV positivos com imunossupressão avançada no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas**. Rio de Janeiro, 2016. 70 f. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas]. Instituto Nacional de Infectologia, Fiocruz.

RESUMO

A criptococose assume caráter oportunista em pacientes vivendo com HIV-aids e imunossupressão avançada. A principal forma clínica é a meningoencefalite, responsável por 625.000 mortes anuais. A identificação de antígenos capsulares (CrAg) em soro e líquido é uma ferramenta que desempenha papel fundamental no diagnóstico. A técnica de *Lateral Flow Assay* é recomendada pela Organização Mundial de Saúde como rastreamento de CrAg em pacientes infectados pelo HIV com CD4 abaixo de 100 células/mm³ em países com prevalência da doença acima de 3%, além do tratamento preemptivo com fluconazol nos casos de antigenemia isolada. O Brasil carece de estudos conclusivos sobre prevalência desta micose e a técnica de LFA é de baixo custo, fácil realização e interpretação. Objetivando estabelecer a prevalência da criptococose no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas-Fiocruz e descrever o perfil clínico-laboratorial da meningite criptocócica no nosso meio, foi realizado um estudo híbrido, Seccional e Coorte, utilizando LFA e cultura, com 89 pacientes infectados pelo HIV com CD4 abaixo de 200 céls/mm³ ou sinais de imunossupressão. A prevalência de CrAg foi de 11,23% (10/89), de meningite criptocócica foi 6,74% (6/89) e de antigenemia isolada, de 4,81% (4/83). A mediana de CD4 do grupo CrAg positivo foi de 20 céls/mm³. O CD4 dos casos de meningite criptocócica foi menor do que aqueles sem a doença (p-valor=0.019). Rigidez de nuca teve associação significativa entre os grupos CrAg positivos e negativos (p-valor 0.004). Estas análises indicaram a importância de se rastrear o CrAg na população infectada pelo HIV para diagnóstico precoce e implementação do tratamento preemptivo nos casos de antigenemia isolada.

Palavras-chave: 1) Criptococose, 2) HIV, 3) CrAg, 4) LFA, 5) Antigenemia

Ferreira, MF., **Prevalence of cryptococcal antigenemia in HIV patients with advanced immunosuppression at the Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.** Rio de Janeiro, 2016. 70 f. Master [Science Dissertation in Clinical Research in Infectious Disease]. Instituto Nacional de Infectologia, Fiocruz.

ABSTRACT

Cryptococcosis is opportunistic in HIV infected patients and advanced immunosuppression. The leading clinical form is the meningoencephalitis, responsible for about 625.000 deaths/year. The identification of capsular antigen (CrAg) in serum and cerebral spinal fluid has an important role in diagnosis. The Lateral Flow Assay (LFA) is recommended by World Health Organization for CrAg screening in HIV infected patients with CD4 less than 100 cels/mm³ in countries with disease's prevalence higher than 3%. Preemptive treatment with fluconazole is indicated for isolated antigenemia. In Brazil there are no conclusive studies about prevalence of this mycosis and LFA is inexpensive and easy to perform. To establish the prevalence of cryptococcosis in Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas-Fiocruz and describe clinical-laboratory features of cryptococcal meningitis in our population, we conducted a hybrid study, Sectional and Cohort, including 89 pacientes, that performed blood culture and LFA. The prevalence of CrAg positive was 11,23% (10/89), meningitis prevalence was 6,74% (6/89) and isolated antigenemia, 4.81% (4/83). The median CD4 count of the CrAg positive group was 20 céls/mm³. Criptococcal meningits patients had lower CD4 count than those without clinical disease (p-value=0.019). Neck stiffness was significantly associated with CrAg positive group (p-value=0.004). These analisis indicated the need for CrAg screening in HIV infected people for early diagnosis and preemptive treatment in isolated antigenemia.

Keywords: 1) Cryptococcosis, 2) HIV, 3) CrAg, 4) LFA, 5) Antigenemia

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1) INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 2) REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 2 |
| 2.1) HISTÓRICO | 2 |
| 2.2) NOMENCLATURA..... | 4 |
| 2.3) FATORES DE VIRULÊNCIA | 5 |
| 2.3.1) Sorotipos e tipos moleculares..... | 5 |
| 2.3.2) Tipos sexuais e assexuais..... | 7 |
| 2.3.3) Cápsula..... | 9 |
| 2.3.4) Melanina..... | 10 |
| 2.4) PATOGENIA..... | 11 |
| 2.4.1) Forma de aquisição | 11 |
| 2.4.2) Resposta imune..... | 11 |
| 2.5) ECOLOGIA | 13 |
| 2.6) CRIPTOCOCOSE E AIDS..... | 14 |
| 2.7) TRATAMENTO | 17 |
| 2.8) DIAGNÓSTICO..... | 18 |
| 2.9) RASTREIO DE CRAG..... | 21 |
| 3) JUSTIFICATIVA..... | 22 |

| | |
|--|-----------|
| 4) OBJETIVOS | 23 |
| 4.1) OBJETIVO GERAL..... | 23 |
| 4.2) OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 23 |
| 5) METODOLOGIA | 24 |
| 5.1) ASPECTOS ÉTICOS | 24 |
| 5.2) POPULAÇÃO DO ESTUDO | 24 |
| 5.2.1) Critérios de inclusão | 24 |
| 5.2.2) Critérios de exclusão | 24 |
| 5.3) DESENHO..... | 25 |
| 5.4) COLETA DE ESPÉCIMES CLÍNICOS..... | 26 |
| 5.4.1) Processamento das amostras | 26 |
| 5.5) CONSIDERAÇÕES | 27 |
| 5.6) ANÁLISE ESTATÍSTICA | 28 |
| 6. RESULTADOS | 29 |
| 7. DISCUSSÃO | 41 |
| 8. CONCLUSÕES | 49 |
| 9. REFERÊNCIAS | 50 |
| APÊNDICES | 60 |

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** Fase teleomórfica *in vitro*. *F. neoformans*.....7
- Figura 2** Nomenclatura e divisão do complexo *Cryptococcus neoformans-gattii* de acordo com sorotipos, tipos moleculares e distribuição geográfica.....8
- Figura 3** *C. neoformans* montado em tinta nanquim9
- Figura 4** Prevalência de adultos vivendo com HIV/aids no mundo.....15
- Figura 5** Diferenciação entre as espécies *C. gattii*, de coloração azul, e *C. neoformans*, amarelo-esverdeado, ambas no meio CGB19
- Figura 6** Fitas de *Lateral Flow Assay*20
- Fluxograma 1** Inclusão dos voluntários internados no INI-Fiocruz no período de janeiro a dezembro de 201529
- Gráfico 1** Frequência absoluta dos sinais e sintomas dos voluntários do INI-Fiocruz de janeiro a dezembro de 201536

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Variáveis demográficas coletadas no período de janeiro a dezembro de 2015, através dos prontuários dos voluntários incluídos do INI/Fiocruz.....31
- Tabela 2** Análise das variáveis laboratoriais e idade em relação ao CrAg positivo ou negativo nos pacientes do INI-Fiocruz, de janeiro a dezembro de 201532
- Tabela 3** Análise dos sinais e sintomas apresentados e associação com CrAg positivo ou negativo dos pacientes do INI-Fiocruz de janeiro a dezembro de 201537
- Tabela 4** Casos de CrAg positivo no soro dos pacientes do INI-Fiocruz de janeiro a dezembro de 201538
- Tabela 5** Variáveis demográficas, laboratoriais, tratamento, diagnóstico e desfecho de pacientes HIV incluídos no estudo no INI-Fiocruz, de janeiro a dezembro de 201559

LISTA DE ABREVIACOES

μm – Micrometro

AFLP - Polimorfismos de Fragmentos Amplificados

AL – Aglutinao em Látex

céls – Células

CGB – Meio Cavanina-Glicina-Azul de Bromotimol

CrAg – Antígeno Criptoccico

DNA – cido Desoxirribonucleico

EDTA - cido Etilenodiamino Tetra-Acético

FasL – Receptor de Morte Celular

FDA – Food and Drug Administration

GXM – Glucuroxilomanana

HIC – Hipertensão Intracraniana

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

HPP – História Patológica Pgressa

HRCA - Hyperbranched Rolling Circle Amplification

ID - Identificação

IFN- γ – Interferon Gama

IL – Interleucina

IQR - Interquantile Range (Intervalo Interquartil)

IRIS – Inflammatory Reconstitution Immune Syndrome (Síndrome Inflamatória de Reconstituição Imune)

Kg – Quilogramas

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

LFA – Lateral Flow Assay (Ensaio de Fluxo Lateral)

MC – Meningite Criptocócica

mg- Miligrama

mm³ - Milímetro Cúbico

mtlrRNA – Mitochondrial Large Ribosomal RNA

NSA – Meio de Semente de Níger

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCP – Pneumocistose

PCR -Reação em Cadeia de Polimerase

PL – Punção Lombar

RFLP - Polimorfismos Fragmentos de Restrição

RNAr – Ácido Ribonucleico Ribossomal

RPM – Rotações Por Minuto

SD – Standard Desviation (Desvio Padrão)

SNC – Sistema Nervoso Central

TARV – Terapia Antirretroviral

TC – Tomografia Computadorizada

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral Alfa

TLR – Tool Like Receptor

VT – Virgem de Tratamento

1) INTRODUÇÃO

Criptococose é micose de patogenia sistêmica causada por fungos do Filo Basidiomycota, classe Tremellomycetes e ordem *Tremellales* (Findley et al.; 2009), sob forma de leveduras capsuladas, incluindo duas espécies: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* (Lazéra et al., 2013); Bennett et al., 2014; Veronesi, 2009). *C. neoformans* tem distribuição mundial e causa doença principalmente em imunocomprometidos, como os pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida. *C. gattii* tem distribuição geográfica mais restrita, em áreas de clima tropical e temperado, causando doença principalmente em indivíduos imunocompetentes (Lazéra et al., 2013; Heitman et al., 2011). Os agentes de criptococose têm tropismo pelo o Sistema Nervoso Central (SNC) e a forma mais comum nos pacientes com deficiência da imunidade celular é a meningoencefalite, potencialmente grave e com alta letalidade (Heitman et al., 2011; Moretti et al., 2008).

2) REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1) HISTÓRICO

Cryptococcus neoformans é levedura encapsulada, família Tremellaceae, gênero *Cryptococcus* (Bennett et al., 2014; Moretti et al., 2008; Chayakulkeeree and Perfect, 2006), primeiramente descrito em 1894, por Otto Busse, patologista da Universidade de Greifswald, Alemanha, que isolou a levedura de biópsia da tíbia de uma mulher de 31 anos de idade com uma lesão sugestiva de sarcoma ósseo (Heitman et al., 2011; Knoke and Schwesinger, 1994). O achado foi descrito como corpúsculos claros, brilhantes, circulares ou ovais, localizados dentro e fora de células gigantes. A paciente evoluiu com lesões cutâneas ulceradas na face, hematêmese, hematúria, perda de peso e febre. Busse e Abraham Buschke, cirurgião, isolaram o mesmo patógeno de biópsias de pele da mesma paciente, que faleceu cinco meses depois. Na necropsia havia acometimento da face, pulmões, ulna, tíbia, rins e baço, sendo possível a identificação do agente *post-mortem* em alguns destes espécimes clínicos. Estes achados foram publicados e o patógeno nomeado *Sacharomyces hominis* e a doença, “doença de Busse-Bushke” ou “*saccharomycosis hominis*” (Heitman et al., 2011; Jerez Puebla, 2012). Em 1897, Buschke renomeou a doença para blastomicose (Moretti et al., 2008).

No mesmo ano da descoberta de Busse e Bushke, Francesco Sanfelice, na Itália, isolou um fungo encapsulado de suco de pêssigo, denominando-o *Saccharomyces neoformans* (Kurtzman and Fell, 1998) e, em 1895, descreveu efeitos patológicos desta levedura em animais experimentais, observando a similaridade com o agente encontrado por Busse (Knoke and Schwesinger, 1994; Kurtzman and Fell, 1998). Em 1901, Vuillemin transferiu o fungo de Busse e o de Sanfelice para o gênero *Cryptococcus* porque não continham os ascosporos característicos do gênero *Saccaromyces* e eram incapazes de fermentar carbono, denominando-os *C. hominis* e *C. neoformans*, respectivamente (Heitman et al., 2011; Kurtzman and Fell, 1998). A partir de então, vários foram os relatos de casos descritos na literatura da ocorrência

de patologias causadas por agentes muito semelhantes entre si, tanto em animais como em seres humanos, em sistemas orgânicos distintos, como Sistema Nervoso Central, ossos, pele e pulmões (Heitman et al., 2011; Magarey and Denton, 1948; McConchie and Hayward, 1958).

Em 1916, Stoddard e Cutler relataram dois novos casos de meningite e denominaram o fungo causador de *Torula histolytica*, por uma interpretação equivocada de que a cápsula do fungo provocasse uma reação lítica no tecido do hospedeiro (Heitman et al., 2011).

Em 1935, Benhan revisou detalhadamente 22 cepas de leveduras isoladas de espécimes humanos designadas dentro dos gêneros *Cryptococcus*, *Saccaromyces* e *Torula*. Baseado em observações sorológicas, patológicas e morfológicas, concluiu que se tratavam de uma única espécie, *C. hominis*. Em 1950, o mesmo pesquisador propôs o nome *Cryptococcus neoformans*, que se tornou *nomem conservandum* (taxonomia formalmente aceita no Código Internacional de Nomenclatura Botânica) e aboliu a terminologia blastomicose, torulose e *Torula histolytica* (Heitman et al., 2011).

Cryptococcus gattii foi descoberto em 1970. Foi descrito pela primeira vez por Gatti e Eeckels como o achado de uma forma atípica de *C. neoformans* no líquido de uma criança de sete anos de idade que desenvolveu meningoencefalite, na República do Congo (Heitman et al., 2011; Gatti and Eeckels, 1970; Vanbreuseghem and Takashio, 1970). O exame direto do líquido apresentava células leveduriformes encapsuladas, com morfologia típica arredondada, mas algumas formas atípicas ovais, alongadas ou baciliformes. Houve crescimento de *C. neoformans* em meio Sabouraud, 48 horas após a semeadura. A criança foi tratada com Anfotericina B, mas permaneceu com seqüela de redução da acuidade visual (Gatti and Eeckels, 1970). No mesmo ano, Vanbreuseghem e Takashio caracterizaram este isolado a partir da inoculação em animais experimentais por vias intravenosa, intraperitoneal e intracerebral. Encontraram características típicas de *C. neoformans*: era uma levedura que se reproduzia por brotamento; produzia uma cápsula espessa nos tecidos; era patogênica tanto em humanos como em animais experimentais; produzia urease; em anaerobiose não produzia gás a partir de açúcar; assimilava sacarose, maltose, glucose e galactose, mas não lactose; não assimilava nitrato de potássio. No entanto, reconheceram peculiaridades daquele isolado: quando cultivado em meio Sabouraud, apresentava somente células arredondadas, mas quando inoculado em animais experimentais, produzia células baciliformes e alongadas, “forma E”, além das típicas arredondadas, “forma R”. Independente da via de inoculação, esta levedura foi capaz de se

reproduzir em vários órgãos: cérebro, pulmões, baço, fígado, cavidade peritoneal e músculos. Os órgãos acometidos com maior número de leveduras encontradas foram o cérebro e os pulmões (Vanbreuseghem and Takashio, 1970). Por estas razões, concluíram que aquela cepa isolada por Gatti e Eeckels era uma variedade de *C. neoformans*, propondo o nome *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuillemin var. *gattii*. (Vanbreuseghem and Takashio, 1970).

Em 1896, Ferdinand Curtis, professor de patologia da Universidade de Lille, França, publicou um relato de caso de um homem com abscesso subcutâneo, cujo agente etiológico era uma levedura que se apresentava baciliforme ou arredondada. Benhan propôs que era uma variedade de *C. hominis* (de Busse), nomeando *C. hominis* var. *tumefaciens*. Em 2001, análises moleculares identificaram que esta cepa de Curtis era idêntica à *C. gattii*, indicando que a criptococose por esta espécie foi primeiramente descrita por Curtis, um ano depois da descoberta de Busse e Bushke (Heitman et al., 2011).

2.2) NOMENCLATURA

Por questões taxonômicas, sequências de DNA de vários genes de isolados de *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gattii* (*URA5*, *CNLAC1*, *CAP59*, *CAP64*, *IGS* e *ITS* RNAr, *mtlRNA*) foram comparadas e construídas árvores filogenéticas. Independente do gene estudado, a variante *gattii* formou um cluster monofilético claramente diferente da variante *neoformans*. Estudos moleculares reforçaram a separação das duas variáveis em duas espécies. Além disso, o cruzamento das duas variedades não resultou em recombinação genética. Esses resultados evidenciaram que as duas variedades eram suficientemente distintas e deveriam ser reconhecidas como espécies separadas (Kwon-Chung et al. 2002). O conhecimento atual, portanto, identifica duas espécies: *C. gattii* e *C. neoformans* (Lazéra et al., 2013; Kwon-Chung and Varma, 2006).

2.3) FATORES DE VIRULÊNCIA

A virulência de um microrganismo está relacionada a sua habilidade de resistir às barreiras naturais de defesa do hospedeiro, onde passa a se reproduzir e causar infecção (Franzot et al., 1999).

Cryptococcus spp. possui diversos fatores de virulência, dentre eles a cápsula polissacarídea determinante dos diferentes sorotipos, a produção de melanina pela presença da enzima fenol-oxidase e a capacidade de crescer a 37°C. A termotolerância é fundamental para o crescimento e sobrevivência nos tecidos dos mamíferos (Lazéra et al., 2013).

2.3.1) Sorotipos e tipos moleculares

Em 1949, Evans dividiu a espécie *C. neoformans* em três sorotipos, A, B e C, baseado em diferenças sorológicas entre os isolados. O sorotipo D só foi identificado em 1968, por Vogel (Heitman et al., 2011). A especificidade antigênica da cápsula polissacarídea define os sorotipos, baseado em testes de aglutinação ou imunofluorescência (Heitman et al., 2011). Kwon-Chung e colaboradores. propuseram que os sorotipos fossem agrupados nas duas variedades distintas: sorotipos A e D como *C. neoformans* var. *neoformans* e sorotipos B e C como *C. neoformans* var. *gattii* (Lazéra et al., 2013; Kwon-Chung and Varma, 2006)

Estudos moleculares através de análises da sequência do gene *URA5* e de hibridização da sonda CNRE-1 (elemento repetitivo 1 de *C. neoformans*) por DNA *fingerprint* evidenciaram que os sorotipos A e D eram diferentes genotipicamente. Foi sugerido que os sorotipos A e D eram da mesma espécie, porém, de variedades diferentes, propondo-se o nome *C. neoformans* var. *grubii* para o sorotipo A e *C. neoformans* var. *neoformans* para o sorotipo D (Franzot et al., 1999). No entanto, Diaz *et al.*, em 2000, através de sequenciamento da região do espaço intergênico (IGS) associado a DNA ribossomal, concluíram que *C. neoformans* var. *grubii* não deveria ser reconhecida como uma variedade separada (Diaz et al., 2000; Kwon-Chung and Varma, 2006).

Vários híbridos diploides ou anaplóides ocorrem no complexo *C. neoformans-C. gattii*, sendo o mais estudado o AD, que é formado após a conjugação de *C. neoformans* sorotipo D e *C. neoformans* sorotipo A, por sua relevância clínica nos estudos de prevalência, principalmente na Europa (Heitman et al., 2011).

Os sorotipos apresentam diferenças epidemiológicas e alguns estão associados a surtos de doença e maior virulência. O sorotipo A de *C. neoformans* é o implicado na maioria das infecções em humanos e animais mundialmente (Horta et al., 2002, Franzot et al., 1997.; Heitman et al., 2011). Nos últimos anos, os relatos de sorotipo C em pacientes infectados pelo HIV na África Subsaariana têm surgido como pequenos surtos, assim como um aumento de casos de sorotipo D na Europa (Litvintseva et al., 2005; Gates-Hollingsworth and Kozel, 2013). O sorotipo B é normalmente implicado em infecções em imunocompetentes, principalmente o tipo molecular VGII, que causa doença pulmonar grave sem disseminação e foi identificado como causa de surto na Ilha de Vancouver, no Canadá, no final dos anos 90 (Chen et al., 2014; Kidd et al., 2004).

O complexo *C. neoformans-C. gattii* possui oito tipos moleculares maiores, identificados por PCR *fingerprint* (Heitman et al., 2011) que se relacionam com o sorotipo e a espécie: para *C. neoformans*, VNI (sorotipo A), VNII (sorotipo A), VN III (sorotipo AD), VN IV (sorotipo D) e para *C. gattii*, VGI, VGII, VGIII e VGIV, todos sorotipos B ou C (Meyer et al., 2003; Trilles et al., 2014).

Estudos moleculares envolvendo técnicas de cariotipagem, Polimorfismos de Fragmentos Amplificados (AFLP), Polimorfismos Fragmentos de Restrição (RFLP) por hibridização da sonda *CNRE-1*, sequenciamento do gene *URA5*, *hyperbranched rolling circle amplification* (HRCA) com gene *PLB1* são usados para identificação dos tipos moleculares e inquéritos epidemiológicos da criptococose. Vários estudos identificaram o sorotipo A como o mais prevalente no Brasil e no mundo, principalmente nos pacientes com aids (Franzot et al., 1997; Meyer et al., 2003; Horta et al., 2002; Rozenbaum et al., 1992; Igreja et al., 2004). Além disso, permitiram estabelecer a associação entre doença em imunocomprometidos com infecção por *C. neoformans* e doença em imunocompetentes com a infecção por *C. gattii* (Rozenbaum et al., 1992). Em relação à criptococose em pacientes com aids, as técnicas moleculares esclarecem que as recidivas da doença acontecem em sua maioria com a mesma cepa da

infecção original, sugerindo a persistência do agente no hospedeiro ao invés da aquisição de uma nova cepa infectante (Franzot et al., 1997; Igreja et al., 2004).

2.3.2) Tipos sexuados e assexuados

Os tipos sexuados e assexuados também apresentam diferenças em relação à virulência, sendo o tipo sexuado alfa (α) o mais comumente encontrado nos isolados clínicos e ambientais (Heitman et al., 2011; McClelland et al., 2004).

A fase em levedura dos agentes da criptococose corresponde ao ciclo assexuado, ou anamórfico, em que ocorre multiplicação por mitose. A forma filamentosa corresponde à fase sexuada ou teleomórfica ou estado perfeito, quando ocorre meiose e recombinação gênica, descoberta por Kwon-Chung e colaboradores, por meio de reprodução *in vitro* e descrita como *Filobasidiella neoformans* (anamorfo *C. neoformans*) e *Filobasidiella bacillispora* (anamorfo *C. gattii*), resultado da conjugação entre duas células leveduriformes haploides compatíveis de tipos sexuados opostos (Heitman et al., 2011; Lazéra et al., 2013). Os tipos sexuados são “ α ” e “a”, determinados por um locus (MAT) e dois alelos e o MAT- α é o tipo mais encontrado na natureza (McClelland et al., 2004). *F. neoformans* foi identificado após conjugação entre duas cepas compatíveis, MAT- α e MAT-a, dos sorotipo A, D e AD. *F. bacillispora* foi identificada após a conjugação de cepas compatíveis do sorotipo B e C (Heitman et al., 2011; Kwon-Chung and Varma, 2006). A conjugação destas cepas produzem hifas dicarióticas que possuem dilatações terminais, os basídios, onde ocorre formação de basidiósporos, estruturas arredondadas, sem cápsula, que formam cadeias e, caindo em meio de cultura, reiniciam a reprodução em forma de levedura (fase assexuada ou anamórfica) (McClelland et al., 2004). Vide figura 1, foto de microscopia óptica de *F. neoformans*. Na figura 2, um quadro esquemático contendo um resumo da nomenclatura, sorotipos, tipos moleculares e distribuição geográfica do complexo *Cryptococcus neoformans-gattii*.

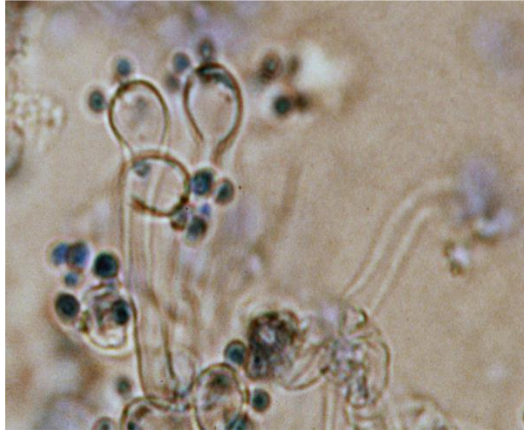


Figura 1. Fase teleomórfica *in vitro*. *F. neoformans*. Filamentos hialinos com dilatação distal (basídeos) com basidiósporos (elementos redondos em azul). Montagem em algodão azul 1000X. FONTE: foto cedida pelo Lab. Micologia INI, Fiocruz

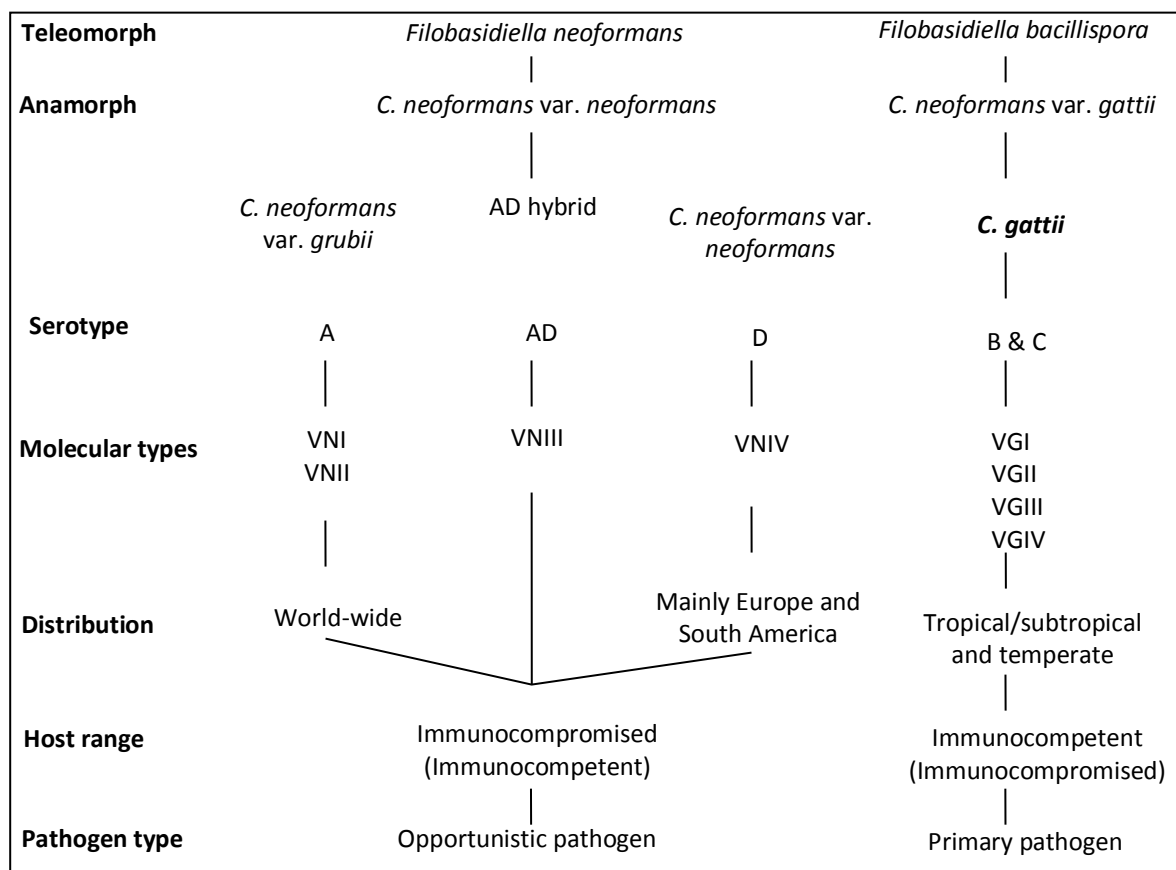


Figura 2. Nomenclatura e divisão do complexo *Cryptococcus neoformans-gattii* de acordo com sorotipos, tipos moleculares e distribuição geográfica. FONTE: quadro cedido pelo Lab. Micologia INI, Fiocruz

2.3.3) Cápsula

A levedura é envolta por uma cápsula polissacarídea (Figura 3), elemento crítico na virulência e patogênese, cujo principal polissacarídeo é a GXM, que representa 90% dos seus componentes, seguida de galactoxilomanana e manoproteínas (estas representando menos de 1%) (Robertson et al., 2014; Vecchiarelli et al., 2013). Quatro genes essenciais para a formação da cápsula foram identificados: *CAP59*, *CAP64*, *CAP60* e *CAP10* (Chang and Kwon-Chung 1999; Chang et al., 1996). A função primária desta estrutura é proteger a célula fúngica dos mecanismos de defesa do hospedeiro, escapando da fagocitose pelos macrófagos (Vecchiarelli et al., 2013). Espécies não patogênicas apresentam diferenças estruturais dos polissacarídeos capsulares, sendo menos eficientes neste mecanismo de escape (Araujo et al., 2012). O tamanho da cápsula interfere diretamente na patogenicidade do fungo. Mutantes acapsulados são incapazes de produzir infecção em modelos experimentais (Robertson et al., 2014; Kwon-Chung and Rhodes, 1986). Durante a infecção de tecidos, ocorre variação de seu tamanho, de sua estrutura e proporção relativa ao volume celular total, estimulado por fatores como disponibilidade de ferro e gás carbônico fisiológico (Robertson et al., 2014). A glucoroxilomana (GXM), antígeno criptocócico usado para diagnóstico laboratorial da criptococose, tem alto peso molecular (1700 a 7000 KDa) (Vecchiarelli et al., 2013) e viscosidade, o que pode contribuir para aumento da pressão intracraniana (PIC) por obstrução do fluxo do líquido cefalorraquidiano (LCR) através da membrana aracnóide (Robertson et al., 2014). É composta por ligações lineares de (1-3) α -D monopiranosil com B-D xilopiranosil, B-D-glicopiranosil-ácido-urônico e substituintes 6-O-acetil (Vecchiarelli et al., 2013). Pacientes com criptococose apresentam altos títulos de GXM no soro e no LCR (Vecchiarelli et al., 2013). Uma vez internalizadas nos macrófagos, iniciam mecanismos para escapar da morte pela fagocitose, reduzindo a capacidade das células apresentadoras de antígenos, desregulando a secreção de citocinas pró-inflamatórias, inibindo a proliferação das células T e induzindo apoptose dos macrófagos ativados via superexpressão de receptores FasL nestas células (Vecchiarelli et al., 2013).

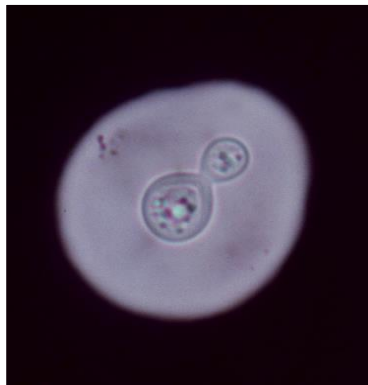


Figura 3. *C. neoformans* montado em tinta nanquim, evidenciando a cápsula polissacarídea e unbrotamento 1000X. FONTE: foto cedida pelo Lab. Micologia INI, Fiocruz

2.3.4) Melanina

C. neoformans e *C. gatti* possuem capacidade de produzir melanina através da enzima fenol-oxidase, caracterizada como uma lacase, que oxida compostos di ou polifenólicos, representando um importante fator de virulência. Este mecanismo de pigmentação não ocorre em outras espécies de *Cryptococcus spp.* e nem em outras leveduras de interesse médico (Lazéra et al., 2013). O depósito de melanina na parede celular atua como proteção aos mecanismos de defesa do hospedeiro. A presença do pigmento altera a produção de citocinas, diminui a capacidade de fagocitose dos macrófagos, diminui a toxicidade de espécies reativas de oxigênio e antifúngicos (Nosanchuk et al., 2015). Mutantes incapazes de produzir melanina tornam-se não virulentos e estão associados a um aumento significativo da sobrevivência de camundongos em experimentos quando comparados com as cepas selvagens (Kwon-Chung et al., 1982b; Kwon-Chung and Rhodes, 1986). Associado à isto, estes agentes possuem tropismo pelo o SNC e o cérebro é rico em catecolaminas, que funcionam como substrato para a enzima fenol-oxidase (Kwon-Chung et al., 1982b).

A idade da célula leveduriforme também é alvo de estudos sobre a virulência do fungo. Alguns autores sugerem que as células mais antigas possuem parede celular mais espessa do que as mais novas, o que interfere na sensibilidade aos polienos e azólicos (Bouklas and Fries, 2015).

2.4) PATOGENIA

2.4.1) Forma de aquisição

Uma vez no meio ambiente, leveduras (blastoconídeos) secas e basidiósporos se encontram suficientemente pequenos, com diâmetro igual ou menor a 3 μm , dispersando-se no ar, podendo ser inalados pelo hospedeiro e chegar aos alvéolos pulmonares. Experimentalmente, leveduras encapsuladas, que têm aproximadamente 4-20 μm de diâmetro, quando expostas a ambientes contendo pouco nutriente ou solo esterilizado, perdem a cápsula, diminuindo o tamanho da célula. Basidiósporos apresentam menos de 2 μm de diâmetro e se dispersam facilmente pelo ar (Sorrell and Ellis, 1997; Ellis and Pfeiffer, 1990). Dependendo da imunidade do hospedeiro e da virulência da cepa, este processo pode evoluir para cura espontânea, infecção latente ou doença, que pode ser restrita ao pulmão ou se disseminar por via hematogênica e alcançar órgãos à distância, com tropismo pelo o Sistema Nervoso Central (SNC), causando meningoencefalite (Heitman et al., 2011; Lazéra et al., 2013).

2.4.2) Resposta imune

A rota de aquisição mais comum da criptococose é via inalação dos propágulos infectantes (blastoconídeos ou basidiósporos) (Heitman et al., 2011). Embora extremamente rara, na literatura encontram-se publicações de criptococose cutânea primária, por provável inoculação direta; a maioria com história de trauma local, causada por ambas as espécies patogênicas discutidas nesta dissertação e até mesmo por *C. laurentii* (que, via de regra, é considerada não patogênico), mas esta via é extremamente rara (Christianson et al., 2003; Leão et al., 2011; Molina-Leyva et al., 2013). Nesta revisão, focaremos na via inalatória.

A incapacidade do hospedeiro de estabelecer uma resposta imune adequada ao *Cryptococcus* spp. resulta na disseminação da infecção além do sítio primário. Esta condição é

comum em pacientes infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) em estágios avançados da doença, além de outras condições imunossupressoras, como uso de corticosteroides por longo prazo e neoplasias (Veronesi, 2009).

Após vencer as barreiras físicas de proteção do organismo, como os movimentos ciliares das vias respiratórias, os propágulos alcançam os alvéolos pulmonares aonde irão ser confrontados com as respostas imunes inata e adquirida do hospedeiro (Heitman et al., 2011; Veronesi, 2009).

Fagócitos presentes nas vias aéreas, macrófagos alveolares e proteínas do surfactante formam a primeira linha da defesa inata do hospedeiro. Os macrófagos representam um papel importante nesta etapa, através de receptores que reconhecem antígenos da parede celular do fungo, como os TLR (receptores *Toll-like*). Uma vez ativados, ocorre fagocitose, tentativa do processo de apoptose e secreção de citocinas para recrutamento de mais células de defesa (Veronesi, 2009; Vecchiarelli et al., 2013). Células dendríticas apresentadoras de antígenos internalizam os antígenos da célula fúngica, migram dos alvéolos até os linfonodos regionais e os apresentam aos linfócitos T (Heitman et al., 2011). As citocinas secretadas pelos macrófagos modulam a resposta celular do linfócito T CD4, determinando padrão de resposta imune para Th1, protetora, ou Th2, favorecendo a infecção (Heitman et al., 2011; Vecchiarelli et al., 2013). A produção de Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), interleucina 12 (IL12) e interleucina 18 (IL18) nos estágios iniciais da infecção direciona o tipo de resposta Th1 protetora, enquanto que concentrações altas de interleucinas 10 e 4 (IL10 e IL4) direcionam para o padrão Th2 (Heitman et al., 2011; Veronesi, 2009; Vecchiarelli et al., 2013).

Linfócitos CD4 e CD8 agem sinergicamente para a defesa do hospedeiro contra a infecção causada por *Cryptococcus spp.*. Deficiência na imunidade mediada por células, como ocorre nos pacientes vivendo com HIV/aids, favorece o desenvolvimento da doença e disseminação da infecção. Linfócitos T CD4 recrutam e ativam células inflamatórias, enquanto que os linfócitos CD8 promovem a lise de fagócitos inativados contendo *Cryptococcus spp.* no citoplasma ou induz sua ativação através da secreção de interferon-gama (IFN- γ) (Heitman et al., 2011).

A imunidade humoral é ativada pela infecção pulmonar, que estimula a produção de anticorpos contra antígenos do fungo, como a cápsula polissacarídea, cujo componente principal é a GXM (Heitman et al., 2011; Vecchiarelli et al., 2013), principal fator de virulência.

Ocorre a produção de imunoglobulinas M e G (IgM e IgG), mas sua relação com a proteção contra *Cryptococcus* não é bem elucidada (Heitman et al., 2011). A opsonização de formas capsuladas ocorre principalmente por anticorpos IgG, com alguns estudos clínicos e experimentais sugerindo uma evolução mais favorável na presença desses anticorpos (Veronesi, 2009). No entanto, a resposta imune celular é a mais importante e sua deficiência aumenta a susceptibilidade do hospedeiro às formas mais graves da doença.

2.5) ECOLOGIA

A infecção criptocócica é adquirida pela inalação de propágulos infectantes presentes no meio ambiente (Bennett et al., 2014; Heitman et al., 2011; Veronesi, 2009). A emergência da criptococose no mundo desencadeou ao longo dos anos o estudo do habitat natural destes agentes, de microfocos e de sua distribuição geográfica. Durante seu crescimento saprobiótico, os blastoconídeos ou os basidiósporos se dispersam pelo ar, sendo inalados pelos humanos ou outros vertebrados, estabelecendo uma infecção pulmonar, ativando a resposta imunológica do hospedeiro (Heitman et al., 2011).

C. neoformans é o principal agente causador de meningite fúngica em pacientes com aids e outras imunodeficiências, sendo o sorotipo A (genótipo VNI) o mais prevalente, de distribuição mundial (Heitman et al., 2011). Tem sido isolado de várias fontes e substratos no ambiente, notadamente em solos ricos em nitrogênio contendo excretas secas de pombos, mas também de outras aves, como papagaios, canários e periquitos, com elevada concentração deste agente, constituindo microfocos. Ambientes com madeira em decomposição, solo e árvores de várias espécies também são reservatórios e estão relacionados ao habitat natural deste agente (Sorrell and Ellis, 1997).

Na cidade do Rio de Janeiro, RJ, Brasil, *C. neoformans* já foi isolado em árvores de várias espécies, como *Cassia grandis*, *Ficus microcarpa*, *Sena multijuga*, entre outras, sugerindo que este agente não tem associação com uma espécie específica de árvore (Lazéra et al., 1996).

C. gattii ocorre em áreas de clima tropical, subtropical e temperado, incluindo países como Austrália, Papua Nova Guiné, partes da África e Ásia, Índia, México, Brasil, Paraguai e Califórnia e mais recentemente, Canadá e costa do pacífico nos Estados Unidos (Sorrell and Ellis, 1997; Kidd et al., 2004; Espinel-Ingroff and Kidd, 2015). O primeiro isolado ambiental desta espécie foi na Austrália, associado com *Eucalyptus camaldulensis*, mas estudos subsequentes no mesmo país identificaram a presença do agente em outras espécies de eucaliptos, como *E. rudis*, *E. tereticornis* e *E. gomphocephala*. Coalas que vivem nessas áreas e mantêm contato direto com estas árvores também são hospedeiros de *C. gattii* (Sorrell and Ellis, 1997). Pesquisas de campo ao longo dos anos nos países de clima favorável à presença de *C. gattii* estabeleceram que este fungo pode ser recuperado em outros tipos de árvores e não são específicos ou originários de eucaliptos, pois seu nicho ecológico está relacionado a substratos vegetais, principalmente madeiras em decomposição (Lazera et al., 2000).

Nos isolados clínicos, observa-se variação na distribuição geográfica entre os tipos moleculares de *C. gattii*, ainda que inquéritos mais amplos com amostras ambientais e clínicas sejam necessários para melhor entendimento desta distribuição. Os tipos mais prevalentes são VGI e VGII. Na Austrália, VGI é o principal, seguido de VGII, mas na América do Sul o VGII sorotipo B é o que predomina (Chen et al., 2014). Na Europa, a maioria dos *C. gattii* encontrados foi VGI (Hagen et al., 2012) No Brasil, além das árvores já mencionadas, *C. gattii* já foi isolado de psittacideos (Raso et al., 2004) e excretas de morcegos, assim como de poeira doméstica (VGII) (Brito-Santos et al., 2015)

Em Teresina (Piauí), Brasil, a maioria dos pacientes imunocompetentes diagnosticados com meningite criptocócica tem como principal agente *C. gattii* (Martins et al., 2011) e reflete endemia da Região Nordeste do país, que se estende até a Região Norte, englobando a Amazônia, onde o principal agente de meningite criptocócica é o genótipo VGII (Trilles et al., 2008).

2.6) CRIPTOCOCOSE E AIDS

Desde o início da epidemia, quase 75 milhões de pessoas foram infectadas com o HIV e aproximadamente 38 milhões de pessoas morreram em consequência desta infecção. Segundo

a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2013 existiam aproximadamente 35 milhões de pessoas vivendo com HIV/aids no mundo, com 1,5 milhões de mortes relacionadas à doença. A África Subsaariana é a região mais afetada pela epidemia, com um em cada 20 adultos infectados, contribuindo com 71% dos casos mundiais (Organização Mundial de Saúde, 2016). No Brasil, desde o início da epidemia até 2015 foram notificados 798.366 casos (Ministério da Saúde, 2015a). No último boletim epidemiológico do Ministério da Saúde estimou-se que, no fim de 2014, 781.000 indivíduos viviam com HIV/aids no Brasil, representando uma taxa de prevalência de HIV de 0.39%. Dentre esta população, um pouco mais da metade, 52%, estava em uso de terapia antirretroviral (TARV) e destes, 46% apresentavam supressão viral após seis meses de início da terapia (Ministério da Saúde, 2015a).

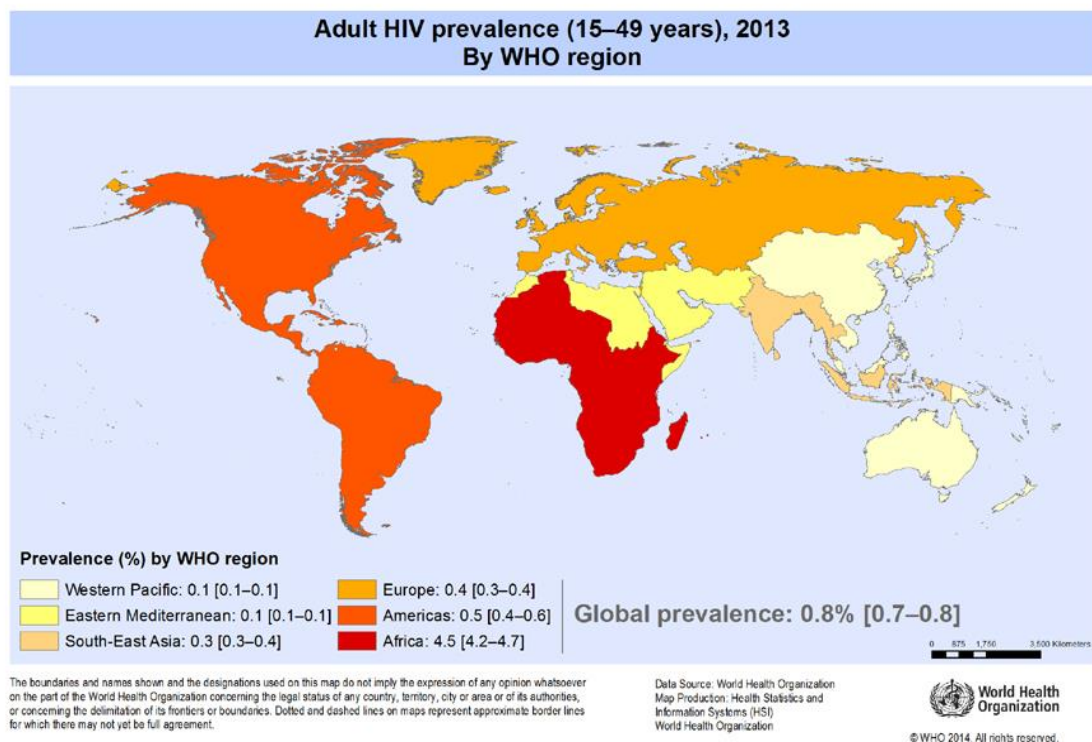


Figura 4. Prevalência de adultos vivendo com HIV/aids no mundo. FONTE: Organização Mundial de Saúde, 2014

O acesso à TARV de alta potência é um avanço no combate à epidemia, reduzindo a proporção de mortes após sua introdução. A taxa de mortalidade relacionada ao HIV em 2013 foi 22% menor do que a de 2009 e 35% menor que a calculada em 2005 (Organização Mundial de Saúde, 2016).

A aids é o principal fator de risco para o desenvolvimento de meningite criptocócica ou criptococemia (Lin et al., 2015; Hajjeh et al., 1999; Leimann and Koifman, 2008). Ocorre predominantemente em pacientes com contagem de CD4 abaixo de 100 céls/mm³ e a espécie *C. neoformans* é a principal envolvida nesta população (Moretti et al., 2008; Perfect et al., 2010).

C. neoformans é o principal agente causador de meningite na África Subsaariana e é responsável por 10-20% de todas as mortes em pacientes vivendo com HIV/aids nesta região (Park et al. 2009). Na Tailândia a taxa de mortalidade encontrada nesta população foi de 17% (Jarvis et al., 2014). Em um estudo realizado no Rio de Janeiro em um Centro de Pesquisa de Doenças Infecciosas, a criptococose foi a primeira doença oportunista em 15,7% dos pacientes com aids (Junior et al., 2006). A letalidade no Brasil varia entre 35 a 40% e a prevalência entre 8 e 12%, mas os estudos de prevalência em nosso meio são poucos e não conseguem uma estimativa representativa de todo o país (Lazéra et al., 2013).

A meningite é a principal forma de acometimento da doença criptocócica e entre seus sintomas mais comuns estão cefaleia e febre. Sinais meníngeos são observados em menos da metade dos casos e na presença de hipertensão intracraniana (HIC), vômitos, diplopia, confusão, coma e papiledema podem estar presentes. Além disso, pode haver envolvimento pulmonar e cutâneo, com pápulas umbilicadas semelhantes às lesões de molusco contagioso (Ministério da Saúde, 2015b). De uma forma geral, no entanto, os sinais e sintomas podem ser pouco expressivos e inespecíficos, dificultando a identificação dos casos e o diagnóstico precoce.

2.7) TRATAMENTO

O tratamento da criptococose depende da forma clínica e do estado imunológico do indivíduo infectado. A meningite criptocócica em pacientes com aids deve ser tratada com Anfotericina B desoxicolato, 0,7-1 mg/Kg/dia, associada à 5-flucitosina, 100 mg/Kg/dia, na fase de indução, por pelo menos duas semanas. A fase de consolidação só deve ser iniciada após este período e se a cultura do líquido for negativa na segunda semana do tratamento. A droga de escolha nesta fase é o fluconazol, 400 mg/ dia, utilizado por 8 a 10 semanas. Depois segue-se a fase de manutenção com fluconazol, 200 mg/dia, até recuperação da imunidade, ou seja, até CD4 acima de 100 céls/mm³ por pelo menos 6 meses, em uso de TARV eficaz com carga viral de HIV indetectável (Moretti et al., 2008; Panel...,2016; Organização Mundial de Saúde, 2011; Jarvis and Harrison, 2007). O uso da formulação lipossomal da anfotericina B, no lugar da desoxicolato, na dose de 4 mg/Kg/dia é uma alternativa eficaz, principalmente nos indivíduos com alto risco de deteriorização da função renal (Masur et al., 2014; (Panel..., 2016).

A criptococose é sabidamente associada à Síndrome Inflamatória de Reconstituição Imunológica (IRIS) após o início da TARV. A forma clássica ou paradoxal ocorre quando o paciente inicia o tratamento da micose antes do início do antirretroviral. Ocorre melhora clínica inicial devida à terapia antifúngica e, após início da TARV, o paciente apresenta deterioração do estado geral, desenvolve novas manifestações clínicas, resultantes da restauração imunológica mediada pelo início dos antirretrovirais. A outra forma de IRIS, associada à TARV, ocorre quando o paciente apresenta o primeiro episódio de criptococose após o início da TARV. Nesses casos, a restauração imunológica exacerba os sinais e sintomas clínicos de uma criptococose ativa, mas que antes do início das drogas antirretrovirais estavam em estágio subclínico (Haddow et al., 2010).

A incidência de IRIS paradoxal varia de 8-49%. O tempo de início dos sintomas deve ser dentro de 12 meses após o início da TARV eficaz. As manifestações clínicas podem variar: meningite, linfadenopatia, lesões cerebrais, aumento da pressão intracraniana, doença multifocal, lesões cutâneas e pneumonites ou nódulos pulmonares (Haddow et al., 2010). A mortalidade relacionada à esta forma varia de 27-83% na África e 0-20% na América do Norte, Europa e Sudeste da Ásia. Em contraste, a incidência de IRIS associada à TARV varia de 0,2-1,6%. O rastreio de criptococose antes do início de antirretrovirais é recomendável e a pesquisa

de CrAg, por Aglutinação em Látex (AL) ou LFA, é ferramenta útil nesses casos. A terapia preemptiva antes da TARV para os casos de antigenemia sem sintomas diminui o risco de criptococose clínica (Longley et al., 2013).

Os fatores de risco estabelecidos para IRIS são: baixa resposta inflamatória inicial, evidenciada por celularidade baixa no líquido, rápida reconstituição imune em comparação ao CD4 inicial e alta carga fúngica ou título de CrAg (Longley et al., 2013).

O tempo de início de TARV nos pacientes com meningite criptocócica ainda é incerto, mas alguns dados mostraram que, nestes casos, a terapia deve ser postergada. No estudo realizado no Zimbábue, os pacientes foram tratados com monoterapia com fluconazol (Makadzange et al., 2010). A mortalidade geral foi muito maior naqueles iniciando TARV em três dias, do que naqueles iniciando em dez semanas. O estudo *Cryptococcal Optimal ART Timing (COAT)*, realizado na África do Sul e Uganda, tratou os pacientes com anfotericina B e comparou o início de TARV em duas semanas e cinco semanas, sendo interrompido precocemente por alta mortalidade no grupo que iniciou TARV precocemente (Boulware et al., 2014). Estes resultados contrastam com os de estudos envolvendo outras condições oportunistas que demonstraram uma associação entre o início precoce de TARV e uma melhor taxa de sobrevivência (Zolopa et al., 2009; Abdool Karim et al., 2010; Havlir et al., 2011).

2.8) DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da criptococose se baseia na pesquisa direta em fluido biológico por tinta nanquim, isolamento do fungo por cultivo de espécimes clínicos, visualização do agente por colorações especiais em peças de biópsia, além da pesquisa de antígeno capsular criptocócico (CrAg) no soro ou no líquido (Bennett et al., 2014; Veronesi, 2009).

A análise do líquido é o principal exame no diagnóstico da meningoencefalite e está indicado em todo paciente com doença extra neural comprovada (Moretti et al., 2008; Organização Mundial de Saúde, 2011). A tinta nanquim é utilizada em exame direto, sendo um método útil e rápido para o diagnóstico da meningite criptocócica, revelando sua cápsula polissacarídea, sendo positiva em mais de 80% dos pacientes com esta forma clínica e aids, pois

a maioria tem diagnóstico tardio. Todavia, é um exame dependente da experiência do microbiologista e existem relatos na literatura de falso negativo em 20-30% dos resultados em infecções por *C. neoformans* ou *C. gattii* com cápsula deficiente ou devido à baixa carga fúngica do agente, principalmente nos momentos iniciais da infecção, quando o diagnóstico é fundamental, sendo indicado nessa situação o teste do CrAg no líquido e o cultivo (Heitman et al., 2011; Veronesi, 2009).

A cultura deve ser realizada em meio Sabouraud 2%. O meio de semente de Níger (NSA) apresenta excelente rendimento em amostras de escarro, urina e pele, sendo visualizada colônia de cor marron escuro devido à produção de melanina pela fenol-oxidase. O teste com cavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB) diferencia as espécies *C. gattii* de *C. neoformans* (Figura 5) e baseia-se na resistência à L-cavanina e assimilação de glicina, sendo positivo para *C. gattii* e negativo para *C. neoformans* (Kwon-Chung et al., 1982a)

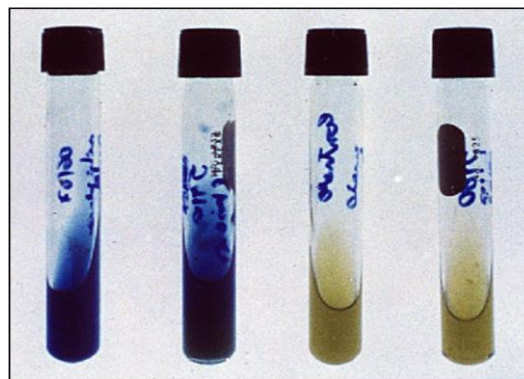


Figura 5. Diferenciação entre as espécies *C. gattii*, de coloração azul, e *C. neoformans*, amarelo-esverdeado, ambas no meio CGB. FONTE: imagem cedida pelo Lab. Micologia INI-Fiocruz

Cortes de tecidos são corados por mucicarmin de Mayer, ácido periódico de Schiff (PAS). A impregnação pela prata, Gomori-Grocott, evidencia a parede fúngica, mas não discrimina a cápsula. A coloração Fontana-Masson evidencia o depósito de melanina, auxiliando no diagnóstico (Lazéra et al., 2013).

Assim, frente aos métodos diagnósticos tradicionais (microscopia e cultivos), a detecção de antígenos representa uma ferramenta ideal, já que é mais sensível, específica e de rápido processamento. Existem kits comercialmente disponíveis (aglutinação do látex e imunoenzimático) bem padronizados e utilizados amplamente. Contudo, algumas limitações incluem o custo e a necessidade de estrutura laboratorial mínima (por exemplo, geladeira para armazenar os reativos) e pessoal treinado (Organização Mundial de Saúde, 2011).

Em 2011, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou uma inovadora técnica para detecção de CrAg, denominada *Lateral Flow Assay* (LFA) (Immuno-Mycologics Inc, Norman, Oklahoma). Consiste na aplicação do método imunocromatográfico, desenhado para ser utilizado à beira do leito ou “onde o paciente está” (*point-of-care*). Não precisa de geladeira e sua realização é muito simples, requerendo apenas dez minutos. Baseia-se no uso de anticorpos monoclonais impregnados em fita teste para detectar o antígeno polissacarídeo capsular GXM dos quatro sorotipos (A-D) de *Cryptococcus spp.*. Apresenta custo menor que qualquer outra técnica para detecção de antígenos e tem sido recomendada pela OMS para o diagnóstico da meningite criptocócica em pacientes com aids que apresentem CD4 abaixo de 100 céls/mm³, mesmo que assintomáticos. Esta estratégia permite identificar precocemente pacientes com doença criptocócica em estágio subclínico (Organização Mundial de Saúde, 2011). A figura 6 apresenta uma foto do exame LFA, demonstrando resultados positivos e negativos. A técnica de LFA empregada em soro, plasma ou líquido tem maior sensibilidade e especificidade do que a AL, conforme demonstrado em alguns estudos (Boulware et al., 2014b; Binnicker et al., 2012; McMullan et al., 2012). Estes estudos de comparação mostraram sensibilidade e especificidade do LFA acima de 99%.

A OMS recomenda esta estratégia em regiões com prevalência de criptococose acima de 3%, mostrando-se custo-efetiva tanto na África como nos Estados Unidos da América, onde a prevalência de criptococose é menor do que valor sugerido como corte pela OMS (Organização Mundial de Saúde, 2011). Atualmente, não existem estudos prospectivos que estimem a prevalência dessa micose associada a aids no Brasil.

2.9) RASTREIO DE CRAG

Diversos países, principalmente no continente africano, têm adotado o CrAg para estudos de prevalência e avaliação do custo-benefício em seus respectivos serviços de saúde (Longley et al., 2015; Jarvis et al., 2009; Rugemalila et al., 2013; Beyene et al., 2013).

Um estudo realizado em um hospital universitário na Nigéria em 2011 estimou a prevalência de 12,7% entre os pacientes HIV virgens de terapia antirretroviral com CD4 abaixo de 200 céls/mm³ (Osazuwa et al., 2012). Na Tanzânia, outro estudo epidemiológico realizado em um único centro revelou uma prevalência de 5% entre estes pacientes e a meningite criptocócica foi responsável por 26,3% de todas as mortes deste grupo (Wajanga et al., 2011). Em Uganda, o rastreio foi realizado em pacientes com CD4 baixo de 100 céls/mm³ e assintomáticos, encontrando a prevalência de 5,8% de antigenemia positiva (Liechty et al., 2007). No Vietnã, a prevalência encontrada foi de 4%, concluindo-se que havia benefício do rastreio ao realizarem estudo de custo-efetividade (Smith et al., 2013), assim como na África do Sul, onde a prevalência foi de 7% (Jarvis et al., 2013). Na Etiópia, o rastreio se mostrou eficaz e custo-efetivo tanto em pacientes já experimentados em TARV quanto naqueles virgens de tratamento (Beyene et al., 2013).

3) JUSTIFICATIVA

A meningite criptocócica em pacientes vivendo com HIV/aids é causa de elevada morbimortalidade nesta população, mesmo após introdução da TARV, principalmente nos países em desenvolvimento. Este quadro ocorre predominantemente em pacientes com diagnóstico tardio do HIV e naqueles com má adesão e/ou falha terapêutica. No Brasil, a letalidade de pacientes infectados pelo HIV com meningite criptocócica, na era pós TARV, é de aproximadamente 30-60%. O diagnóstico precoce das doenças oportunistas em pacientes com imunossupressão avançada é fundamental para o início imediato do tratamento, com impacto na sobrevida destes pacientes. A estratégia de rastreio de CrAg é recomendada pela OMS em populações com prevalência da doença acima de 3% e ainda não temos em nosso país estudos de prevalência conclusivos, mas dispomos de ferramentas como o LFA, que é de baixo custo, fácil realização e interpretação.

4) OBJETIVOS

4.1) OBJETIVO GERAL

Estimar a prevalência da antigenemia criptocócica nos pacientes infectados pelo HIV com CD4 abaixo de 200 céls/mm³ ou com sinais ou sintomas clínicos de imunossupressão internados no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI)-Fiocruz.

4.2) OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1-Estimar a prevalência de antigenemia criptocócica isolada na população de pacientes infectados pelo HIV com imunossupressão avançada internados no INI-Fiocruz;

2-Descrever o perfil clínico e laboratorial dos pacientes diagnosticados com meningite criptocócica e com antigenemia criptocócica isolada;

3-Estimar a letalidade dos pacientes com antigenemia criptocócica em seis semanas.

5) METODOLOGIA

5.1) ASPECTOS ÉTICOS

Os pacientes incluídos neste estudo foram os mesmo do projeto “Prevalência de Infecções Fúngicas Oportunistas em Pacientes com HIV e Imunossupressão Grave”, aprovado pelo CEP do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fiocruz, RJ, CAAE 32481514.8.0000.5262. O presente estudo foi reconhecido pelo mesmo CEP como sub-projeto deste maior e utilizou o mesmo TCLE (Apêndice B).

5.2) POPULAÇÃO DO ESTUDO

5.2.1) Critérios de inclusão

- Pacientes com diagnóstico confirmado de infecção pelo HIV, segundo o algoritmo do Ministério da Saúde do Brasil;
- Contagem de CD4 ≤ 200 céls/mm³. Na ausência deste dado, aqueles que apresentaram sinais ou sintomas clínicos de imunossupressão avançada (qualquer condição definidora de aids) também foram incluídos;
- Pacientes internados no INI-Fiocruz entre 01/01/2015 a 15/12/2015

5.2.2) Critérios de exclusão

- Ausência de consentimento para participar do estudo;

- História patológica progressiva de doença criptocócica;
- Pacientes reinternados que foram incluídos mais de uma vez no estudo maior (Prevalência de Infecções Fúngicas Oportunistas em Pacientes HIV e Imunossupressão Grave);
- Não ter realizado coleta de sangue para LFA e/ou hemocultura.

5.3) DESENHO

Foi desenvolvido estudo híbrido: Seccional e Coorte.

Estudo Seccional: prevalência de antigenemia criptocócica. Os resultados positivos foram comunicados à equipe médica assistente para dar seguimento à investigação de doença criptocócica e tratamento.

Estudo de Coorte: acompanhamento clínico e análise de prontuário da casuística. Os pacientes foram acompanhados até a alta hospitalar ou óbito.

O prontuário médico de cada paciente foi revisado à procura de sinais e sintomas clínicos, diagnóstico da internação, história patológica progressiva de doença criptocócica, histórico do HIV e exames laboratoriais relevantes.

Os preditores quantitativos analisados foram: CD4, nadir de CD4, idade, LDH (desidrogenase láctica), albumina, creatinina, ureia, hemoglobina, leucócitos, plaquetas, análise do líquido (proteína, celularidade, glicose). Os preditores categóricos foram: CrAg no sangue, CrAg no líquido, hemocultura, cultura de líquido, TC de crânio, imagem pulmonar, CD4 abaixo ou igual e maior que 100 céls/mm³, febre, cefaleia, rigidez de nuca, desorientação, crise convulsiva, adenomegalia, tosse, hipoxemia, dispneia, náuseas, vômitos, diarreia, alteração visual, lesões cutâneas, perda ponderal e desfecho (alta hospitalar ou óbito).

Foi analisada a mortalidade da população total do estudo no término de cada internação e também a mortalidade em seis semanas a partir da inclusão dos participantes no estudo.

5.4) COLETA DE ESPÉCIMES CLÍNICOS

Os pacientes foram submetidos à punção venosa periférica para coleta de sangue. Hemocultura para fungos e LFA foram realizados em todas as amostras. Os pacientes com CrAg positivo no soro foram submetidos à punção lombar por recomendação da equipe médica assistente e o líquido submetido ao teste de LFA.

Os exames laboratoriais de hematologia e bioquímica eram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do INI-Fiocruz.

5.4.1) Processamento das amostras

As amostras de sangue e o líquido eram encaminhadas ao Laboratório de Micologia do INI-Fiocruz para processamento.

Para a pesquisa de CrAg era utilizada a metodologia de *Lateral Flow Assay* (LFA) com o kit IMMY CrAg[®] LFA (Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay), utilizando as recomendações do fabricante. Para as amostras de soro: sangue periférico era coletado em tubo com ativador de coágulo e centrifugado a 3500 rpm por 5 minutos para separar o soro. Todo o sobrenadante era retirado. Todo o processo era realizado em temperatura ambiente com o soro fresco. Em um tubo de microcentrífuga de 1,5 ml era colocado 1 gota do diluente do kit e 40 µl da amostra. A fita teste era imediatamente inserida nesta solução, permanecendo por 10 minutos. O teste era considerado positivo na presença de duas bandas (uma controle e outra teste), independente da intensidade da banda (Figura 6). Para amostras de líquido: 1 gota do diluente do kit e 40 microlitros de líquido fresco, em temperatura ambiente. A fita teste era inserida nesta solução, permanecendo por 10 minutos. A interpretação do resultado era a mesma da amostra de soro (Figura 6).



Figura 6. Fitas de *Lateral Flow Assay*, evidenciando amostras reagentes (seta) e não reagentes para CrAg.

A hemocultura era realizada por método automatizado Bact Alert 3d 60, Biomerieux, com leituras contínuas. As culturas eram consideradas negativas após seis semanas sem crescimento. As amostras positivas eram semeadas em meios Sabouraud ágar, mycosel e ágar semente de niger. Para identificação do fungo, era utilizado método automatizado, Vitek 2, Biomerieux, e, se positivo para *Cryptococcus* spp., era utilizado o meio cavanina-glicina-azul de bromotimol para identificação da espécie (*C. gattii* ou *C. neoformans*) (Figura 5). O líquido era centrifugado antes da semeadura nos meios acima descritos e processado em quatro tubos contendo meios Sabouraud ágar e ágar semente de niger, sendo também submetido à exame direto com tinta nanquim (Figura 3). Se houvesse crescimento nos meios, as amostras eram direcionadas para o Vitek 2 para identificação do fungo e, no caso de *Cryptococcus* spp, era inoculado em meio CGB para identificação da espécie (Figura 5).

5.5) CONSIDERAÇÕES

Considerou-se abandono de TARV se o participante já era usuário destas medicações e estava há pelo menos um mês sem uso de nenhuma droga. O uso irregular foi definido como uso de TARV de forma errônea, ou seja, quando o paciente alterou por conta própria o intervalo entre as doses ou o número de comprimidos prescritos pelo médico assistente.

Foi considerada morte relacionada à criptococose se esta doença entrou na cascata de causas de morte no atestado de óbito.

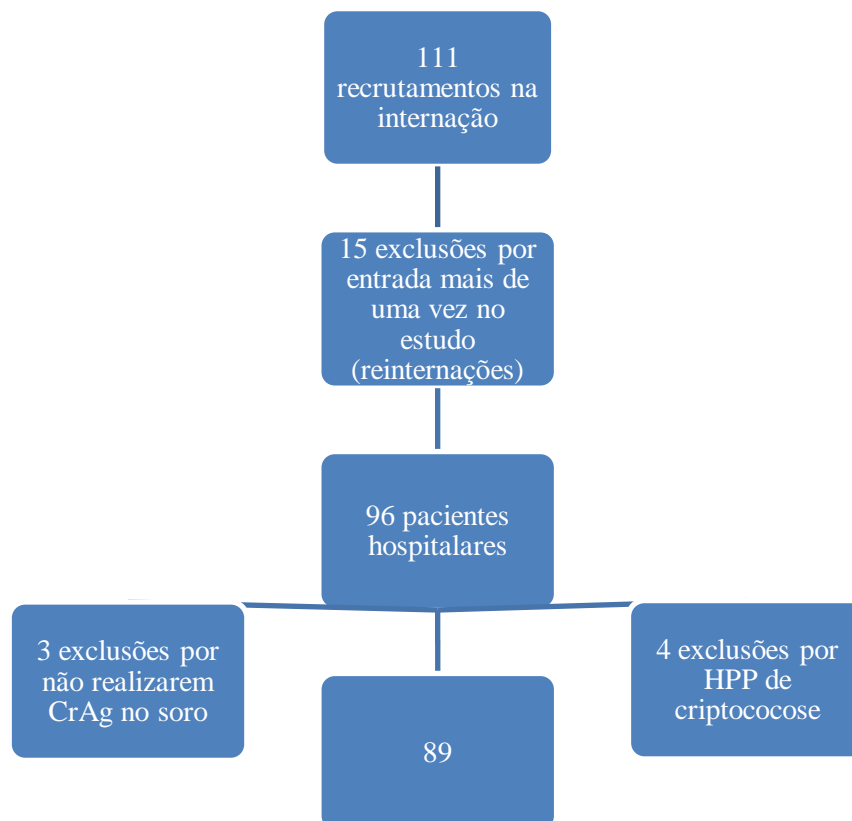
5.6) ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para avaliar a associação dos preditores (demográficos, laboratoriais, sinais e sintomas) com os desfechos, foram utilizados os testes Mann Whitney ou teste T (avaliando a hipótese de normalidade com base no teste de Shapiro-Wilk) para preditores quantitativos e o teste exato de Fisher para os preditores categóricos. O nível de significância definido foi 5%. As análises estatísticas foram realizadas pelo R Studio versão 0.98.501.

6. RESULTADOS

6.1) RECRUTAMENTO DOS PACIENTES

Oitenta e nove pacientes foram elegíveis para análise (Fluxograma 1).



Fluxograma 1 – inclusão dos voluntários internados no INI-Fiocruz no período de janeiro a dezembro de 2015.

6.2) RASTREIO DE CRAG

Dez pacientes apresentaram CrAg positivo no soro, prevalência de 11,23% (10/89). A punção lombar era oferecida à todos os pacientes com CrAg positivo no soro, para investigação de meningite, seguindo o protocolo médico hospitalar. Destes dez, seis tiveram diagnóstico de criptococose com meningite 6,74% (6/89) e, dentre estes seis, quatro também tinham fungemia. Os quatro pacientes restantes tiveram diagnóstico de antigenemia criptocócica isolada 4,81% (4/83), ou seja, sem doença em atividade.

6.3) DADOS DEMOGRÁFICOS E PERFIL LABORATORIAL

A maioria dos voluntários era da cor parda e do sexo masculino (Tabela 1) e, dentre os dez que apresentaram CrAg positivo, cinco eram da cor de pele branca, seguidos de três de cor parda e dois de cor preta. As variáveis cor da pele e sexo não tiveram associação significativa com antigenemia criptocócica (sexo, p-valor=0.276; cor, p-valor=0.35). A mediana de CD4 da população do estudo era de 50 céls/mm³ (IQR 20-132), enquanto que nos dez pacientes com CrAg positivo a mediana era de 29 céls/mm³ (IQR 4.2-103), mas sem diferença estatisticamente significativa entre o CD4 do grupo CrAg positivo e negativo (p-valor=0.082) (Tabela 2). A média de idade foi significativamente menor nos pacientes CrAg positivos (30.3 anos) em comparação aos CrAg negativos (39.6 anos), com p-valor=0.005 (Tabela 2).

Dos dez pacientes CrAg positivos, seis tinham criptococose e quatro foram considerados antigenemia isolada. Não houve diferença estatística entre a média de CD4 dos pacientes com doença criptocócica e antigenemia isolada (28.7 x 82.8, p-valor=0.103), mas houve diferença estatística entre as medianas de CD4 dos diagnosticados com meningite (6) e aqueles sem doença clínica (83), incluindo neste grupo os quatro pacientes com antigenemia isolada: 16 céls/mm³ (IQR 3.2-29.5) x 58 céls/mm³ (IQR 22-142.5), respectivamente, (p-valor=0.019).

Tabela 1. Variáveis demográficas coletadas no período de janeiro a dezembro de 2015, através dos prontuários dos voluntários incluídos do INI/Fiocruz

| | N* |
|-----------------------|------------|
| Sexo | |
| Masculino | 61(69%) |
| Feminino | 28(31%) |
| Cor de pele | |
| Branca | 27(30.33%) |
| Preta | 20(22.47%) |
| Parda | 42(47.19%) |
| Idade | 38(30-47) |
| Mediana(IQR**) | |

*N – número de pacientes; **IQR – intervalo interquartil

Vinte e nove pacientes apresentaram CD4 acima de 100 céls/mm³. Quando categorizado o CD4, 70% (7/10) dos pacientes com CrAg positivo apresentaram CD4 abaixo ou igual a 100 céls/mm³, mas não houve diferença estatística (p-valor=1) (Tabela 2). As características clínicas e demográficas de todos os pacientes do estudo foram listadas no APÊNDICE A (Tabela 5).

Dos dez pacientes que apresentaram CrAg positivo, seis foram diagnosticados com meningite criptocócica (ID 1-6 do APÊNDICE A), com prevalência de 6,74% (6/89) e quatro foram considerados como antigenemia isolada (ID 7-10 do APÊNDICE A), com prevalência de 4,81% (4/83) entre os pacientes que não apresentavam meningite. Os pacientes diagnosticados como meningite foram tratados com anfotericina B, associado ou não a 5-flucitosina ou fluconazol, de acordo com a disponibilidade dos medicamentos no setor de farmácia do hospital e decisão da equipe médica assistente. Aqueles com sinais clínicos e hipertensão intracraniana foram submetidos à punção lombar de alívio intermitente durante o tratamento. Os pacientes diagnosticados com antigenemia isolada receberam fluconazol durante a internação, como tratamento preemptivo, com exceção de um que iniciou este tratamento após a alta hospitalar, em regime ambulatorial.

Três dos dez pacientes CrAg positivos faleceram no decorrer do seguimento (ID 2, 5 e 9 do APÊNDICE A). Apenas uma morte foi relacionada à criptococose (ID 2 do APÊNDICE A). As outras duas não tiveram relação com esta doença, sendo ocasionadas por sepse e linfoma.

As variáveis laboratoriais em relação ao CrAg positivo ou negativo foram expostas na Tabela 2, mas nenhuma apresentou diferença estatisticamente significativa.

Tabela 2. Análise das variáveis laboratoriais e idade em relação ao CrAg positivo ou negativo nos pacientes do INI-Fiocruz, de janeiro a dezembro de 2015

| | CrAg negativo | CrAg positivo | p-valor |
|---|---------------|---------------|---------|
| CD4 (cél/mm³) Mediana(IQR*) | 56(22-147) | 29(4.2-103) | 0.082 |
| Nadir CD4 (cél/mm³) Mediana(IQR*) | 40(12-94) | 19(3.2-19.5) | 0.141 |
| CD4 (número de pacientes e %) | | | 1 |
| ≤100 células/mm³ | 49(65.3) | 7(70) | |
| >100 células/mm³ | 26(34.7) | 3(30) | |
| Idade (anos) Média(dp**) | 39.6(9.6) | 30.3(9.9) | 0.005 |
| LDH (U/l) Mediana(IQR*) | 224(176-395) | 248(192-479) | 0.672 |
| Ureia (mg/dl) Mediana(IQR*) | 30(19-46) | 23(20.2-40.8) | 0.902 |
| Creatinina (mg/dl) Mediana(IQR*) | 0.9(0.8-1.2) | 0.9(0.8-1.5) | 0.559 |
| Albumina (g/dl) Média(dp**) | 2.1(0.8) | 2.3(0.8) | 0.569 |
| Hemoglobina (g/dl) Média(dp**) | 9.3(2.3) | 8.6(1.6) | 0.293 |
| Leucócitos X10³ (/mm³) Mediana(IQR*) | 5.4(3.3-8.1) | 4.6(3.5-6.1) | 0.413 |
| Plaquetas X10³ (/mm³) Média(dp**) | 266.4(117) | 193.4(106) | 0.064 |

*IQR – intervalo interquartil; ** dp - desvio padrão

6.4) DESCRIÇÃO CLÍNICA

6.4.1) Casos de meningite e antigenemia isolada

Um dos pacientes com meningite (ID 5 do APÊNDICE A) não permitiu a realização de PL no momento da identificação da antigenemia, sendo diagnosticado pelos sinais e sintomas clínicos, o único não confirmado laboratorialmente. A PL deste paciente foi realizada após a fase de indução do tratamento. Os outros cinco pacientes foram submetidos à PL, com líquido apresentando CrAg positivo, tinta naquim positiva e isolamento de *C. neoformans* na cultura. Destes cinco, quatro pacientes também apresentaram isolamento do fungo na hemocultura. Portanto, 40% dos pacientes com CrAg positivo apresentaram meningite associado à fungemia. Não houve nenhum caso identificado como fungemia isolada. Os quatro pacientes considerados como antigenemia isolada tinham hemoculturas negativas sem suspeita clínica de criptococose e quando foram submetidos à PL todos apresentavam líquido estéril e CrAg negativo neste material.

6.4.2) Descrição dos pacientes com CD4 acima de 100 céls/mm³:

De toda a casuística, 29 pacientes apresentaram CD4 acima de 100 céls/mm³, sendo três destes com CrAg positivo: um com doença clínica e dois com antigenemia isolada.

No caso diagnosticado clinicamente como meningite criptocócica com CD4 de 106 céls/mm³ não houve isolamento do agente. Apresentava cefaleia, crise convulsiva e confusão mental, além de tomografia computadorizada de crânio sem lesões sugestivas de outras doenças do SNC. O paciente não autorizou a realização de PL na admissão, sendo realizada após duas semanas de fase de indução, com líquido resultando em celularidade normal, tinta naquim e cultura negativas. Este material não foi enviado para pesquisa de CrAg. Desde a internação, já apresentava quadro laboratorial de insuficiência renal crônica de etiologia não esclarecida, desenvolveu sepse por cateter de hemodiálise, foi tratado com antibióticos e apresentou melhora clínica inicial, quando saiu de alta à revelia e retornou na mesma semana com novo quadro séptico, evoluindo para óbito após oito semanas. A criptococose não foi considerada causa associada da morte.

Os dois outros casos de CrAg positivo com CD4 acima de 100 céls/mm³ foram de antigenemia isolada (LCR com CrAg e culturas negativos, hemocultura negativa). Um dos pacientes, de 24 anos, CD4 107 céls/mm³, infectado pelo HIV por transmissão vertical, apresentava sequelas pulmonares graves de tuberculose tratada, com pneumonias de repetição, recebeu fluconazol como tratamento preemptivo, teve alta e permanecia vivo até seis semanas após o exame de LFA. O segundo, 40 anos, CD4 125 céls/mm³, estava internado com neurotoxoplasmose, diagnosticada por imagem sugestiva na TC de crânio. Este paciente não recebeu tratamento antifúngico na internação, mas iniciou tratamento preemptivo ambulatorialmente, após a alta, e permaneceu vivo até o final do período de seguimento do estudo.

Portanto, dos 29 pacientes da casuística com CD4 acima de 100 céls/mm³, um tinha criptococose e dois, antigenemia isolada. Um foi a óbito não relacionado à infecção criptocócica e os outros receberam alta e estavam vivos até o final de período de seguimento.

6.4.3) Descrição clínica dos pacientes com CD4 abaixo ou igual a 100 céls/mm³

Dos 60 pacientes com CD4 abaixo de 100 céls/mm³, dois apresentaram antigenemia isolada (LCR normal com CrAg e cultura negativos, hemocultura negativa). O primeiro apresentava CD4 de 5 céls/mm³, tuberculose disseminada e linfoma não-Hodgkin. Recebeu fluconazol preemptivo, foi transferido, morrendo um mês depois devido ao linfoma. O segundo caso tinha CD4 de 94 céls/mm³, internado por pneumonia comunitária, recebeu fluconazol preemptivo, obteve alta e permanece vivo até o momento.

Nos demais casos de CD4 abaixo de 100 céls/mm³, cinco apresentaram criptococose com isolamento de *C. neoformans* no LCR, dos quais quatro tinham fungemia associada e CD4 abaixo de 50 céls/mm³. Portanto, nos 60 casos de CD4 abaixo de 100 céls/mm³, a prevalência da criptococose foi de 12% (5/60).

Um dos pacientes (ID 2 do APÊNDICE A), com CD4 de 4 céls/mm³, com meningite criptocócica e fungemia, persistia com crescimento de *C. neoformans* no LCR mesmo após três

semanas de tratamento com Anfotericina e flucitosina. O LCR apresentava 11 células/mm³ e proteína de 93,8 mg/dl, evoluindo para óbito em três meses, constituindo o único atribuído à esta micose na casuística analisada.

6.4.4) Terapia antirretroviral

Dos dez pacientes com CrAg positivo, nove não estavam em uso de TARV (4 VT, 5 abandonos) e um estava em uso irregular. Dos pacientes com CrAg negativo (79), quatro estavam em uso regular de TARV e os demais em abandono, uso irregular ou VT. A TARV foi introduzida ou reintroduzida nos pacientes diagnosticados com meningite após pelo menos três semanas de tratamento antifúngico. Nenhum dos pacientes com diagnóstico de meningite criptocócica teve diagnóstico de IRIS.

6.4.5) Comorbidades e outras causas de internação

A criptococose foi a primeira doença definidora de aids em quatro pacientes. Não houve diferença estatística entre o uso de TARV e o resultado de LFA (p-valor = 0.271). Dos dez pacientes com CrAg positivo, dois tinham pneumocistose (PCP) associada.

Dentre as doenças oportunistas que causaram a internação, 17 pacientes foram internados por tuberculose, 12 neurotoxoplasmose, quatro esporotricose, uma histoplasmose, nove pneumocistoses, uma candidose esofágica, uma mucormicose invasiva, cinco sarcomas de kaposi, uma neurosífilis, uma criptosporidiose, uma leucoencefalopatia multifocal progressiva. Todos os diagnósticos estão listados no APÊNDICE A.

6.5) SINAIS E SINTOMAS

Em relação aos sinais e sintomas dos pacientes, perda ponderal, febre e tosse foram os mais comuns, inclusive entre aqueles que tinham CrAg positivo (Gráfico 1). Rigidez de nuca foi o único sinal com significância estatística (p -valor = 0.004) (Tabela 3). Dos quatro pacientes que apresentaram rigidez de nuca, três tiveram diagnóstico de meningite criptocócica, com CrAg positivo. O único que apresentou este sintoma com CrAg negativo teve o diagnóstico de neurotoxoplasmose.

Gráfico 1. Frequência absoluta dos sinais e sintomas dos voluntários do INI-Fiocruz de janeiro a dezembro de 2015

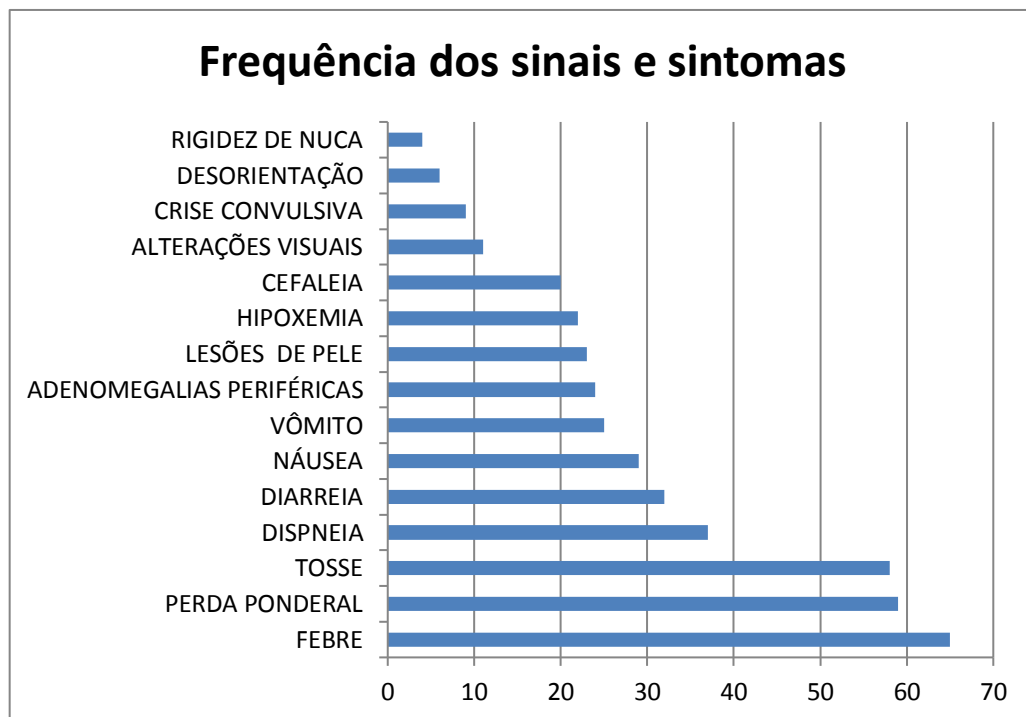


Tabela 3. Análise dos sinais e sintomas apresentados e associação com CrAg positivo ou negativo dos pacientes do INI-Fiocruz de janeiro a dezembro de 2015

| Sintomas | CrAg negativo 79 N(%) | CrAg positivo 10 N(%) | p-valor |
|----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------|
| Febre | 57(72.8%) | 8(80) | 0.723 |
| Cefaleia | 10(20.3) | 4(40) | 0.223 |
| Rigidez de nuca | 1(1.3) | 3(30) | 0.004 |
| Alterações visuais | 8(10.1) | 3(30) | 0.104 |
| Náusea | 25(31.6) | 4(40) | 0.722 |
| Vômito | 22(22.8) | 3(30) | 1 |
| Diarreia | 29(36.7) | 3(30) | 1 |
| Desorientação | 5(6.3) | 1(10) | 0.522 |
| Crise convulsiva | 7(8.9) | 2(20) | 0.266 |
| Lesões de pele | 21(26.6) | 2(20) | 1 |
| Tosse | 53(67.1) | 5(50) | 0.308 |
| Dispneia | 33(41.8) | 4(40) | 1 |
| Hipoxemia | 19(24.1) | 3(30) | 0.704 |
| Perda ponderal | 50(63.3) | 9(90) | 0.155 |
| Adenomegalias periféricas | 22(27.8) | 2(20) | 0.723 |

Foi realizada uma análise de toda a casuística para avaliar a associação entre os sinais e sintomas e o desfecho da internação (alta ou óbito). O único sinal que apresentou diferença estatística em relação à alta ou óbito foi hipoxemia. Dos 14 óbitos da casuística, sete (50%) tinham hipoxemia, enquanto que dentre as 75 altas hospitalares, 15 (20%) apresentaram este sinal durante a internação (p-valor = 0.037). Não foi possível analisar estatisticamente se algum destes sintomas estava associado à mortalidade entre os pacientes com CrAg positivo com e sem criptococose clínica, devido ao pequeno número de indivíduos neste grupo. Foi observado que nove entre os dez pacientes do grupo CrAg positivo apresentava infiltrado pulmonar. O único que não apresentava infiltrado foi um paciente com criptococose forma meníngea. Dos quatro pacientes considerados antígenemia isolada dois tinham diagnóstico de tuberculose e dois, de

penumonia bacteriana, justificando o infiltrado pulmonar. Dentre os cinco pacientes CrAg positivo com imagem de tórax alterada (infiltrados intersticiais e/ou alveolares difusos), dois tinham diagnóstico clínico de pneumocistose associada à criptococose disseminada (forma meníngea e fungemia).

Em relação à TC de crânio, não houve diferença estatística entre os grupos CrAg positivo e negativo. Dos dez pacientes CrAg positivos, sete realizaram a TC, sendo cinco com alterações na imagem: um paciente com lesões sugestivas de neurotoxoplasmose, um paciente com lesão cerebral à esclarecer, que foi biopsiada e o resultado negativo para fungos e anatomopatológico inconclusivo e os outros três com lesões inespecíficas de calcificações e acentuação de sulcos cerebrais.

6.6) ANÁLISE DO LÍQUOR

O exame do líquido nos pacientes com meningite criptocócica apresentava citologia e bioquímica sem alterações inflamatórias significativas. A mediana de celularidade foi 3 céls/mm³ (IQR 1-6.2), todos com predomínio de mononucleares. A mediana de proteinorraquia foi de 54.7 mg/dl (IQR 50.9-63.4) e de glicose 46.5 mg/dl (IQR 43.25-48.5) (Tabela 4). Todos os pacientes com CrAg positivo no líquido também apresentaram exame direto positivo com tinta naquim e culturas para fungos positivas.

Tabela 4. Casos de CrAg positivo no soro dos pacientes do INI-Fiocruz de janeiro a dezembro de 2015

| ID* | CELULARIDADE LÍQUOR(céls/mm ³) | PROTEINA LÍQUOR(mg/dl) | GLICOSE LÍQUOR(mg/dl) | DIAGNÓSTICO DE CRIPTOCOCOSE | DESFECHO |
|-----|---|---------------------------|--------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| 1 | 1 | 50.9 | 53 | DISSEMINADA | ALTA |
| 2 | 11 | 93.8 | 26 | DISSEMINADA | ÓBITO |
| 3 | 5 | 46 | 44 | DISSEMINADA | ALTA |
| 4 | 1 | 51.2 | 43 | DISSEMINADA | ALTA |
| 5 | 1 | 71.6 | 47 | MENINGITE | ÓBITO |
| 6 | 25 | 61 | 30 | MENINGITE | ALTA |
| 7 | 10 | 54.7 | 47 | ANTIGENEMIA ISOLADA | ALTA |
| 8 | 1 | 36.5 | 57 | ANTIGENEMIA ISOLADA | ALTA |
| 9 | 1 | 63.4 | 46 | ANTIGENEMIA ISOLADA | TRANS- FERÊNCIA E ÓBITO |
| 10 | 6 | ND** | 49 | ANTIGENEMIA ISOLADA | ALTA |

*ID- identificação numérica dos pacientes; **ND – dado não disponível

6.7) MORTALIDADE E LETALIDADE

A letalidade dos pacientes com CrAg positivo foi de 30% (3/10) desde a internação até o desfecho (alta ou óbito), sendo que em um pacientes dos seis com doença disseminada, o óbito teve como causa associada a criptococose.

A mortalidade em seis semanas foi de 13,48% (12/89) no grupo de 89 pacientes da casuística. No grupo CrAg positivo foi de 10% (1/10) e não houve diferença estatisticamente significativa entre os pacientes com CrAg positivo e negativo (11/79) (p-valor=1). A presença de fungemia também não foi estatisticamente associada ao óbito. As causas de óbito foram apresentadas no Apêndice A.

6.8) CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a etapa de recrutamento e durante a análise dos dados, foi observado que houveram duas recidivas microbiológicas de meningite criptocócica dentre os seis casos identificados durante o estudo. Estes dois casos tiveram formas disseminadas graves evidenciadas por hemoculturas positivas na primeira internação e ocorreram por abandono de tratamento após três e cinco meses da alta hospitalar (ID 3 e 4 do APÊNDICE A)

7. DISCUSSÃO

A prevalência geral de CrAg positivo observada em 89 pacientes (11,23%) foi comparável à alguns estudos realizados na África, como na Nigéria e em Cape Town, na África do Sul, cujas prevalências encontradas foram de 12,7% e 7%, respectivamente (Jarvis et al., 2009; Osazuwa et al., 2012). Estes estudos foram direcionados a uma população virgem de tratamento, antes do início da TARV, enquanto que nossa casuística foi composta principalmente de pacientes em abandono da terapia, mas também de um pequeno grupo de pacientes VT. Na casuística do estudo prospectivo da Nigéria, em 2011, 28,2% dos pacientes com CrAg positivo tinham CD4 abaixo de 50 céls/mm³ e no presente estudo, 60% dos CrAg positivos estavam nesta faixa de CD4, 10% entre 50 e 100 céls/mm³ e 30% acima de 100 céls/mm³. A gravidade dos pacientes analisados no INI pode ser observada também pela ocorrência de fungemia em quatro dos seis pacientes com criptococose, sendo que estes quatro apresentavam-se na faixa de CD4 abaixo de 50 céls/mm³.

No estudo retrospectivo realizado em Cape Town, África do Sul (Jarvis et al., 2009), de 2002 a 2005, com a expressiva casuística de 707 pacientes, foi observada prevalência de 7% de antigenemia e incluiu pacientes com história anterior de meningite criptocócica. A técnica utilizada foi a AL. Dos 46 pacientes CrAg positivos, 21 tinham história prévia da doença. Para comparar aos nossos resultados, estimamos uma prevalência de detecção de antígeno somente naqueles sem histórico de criptococose, o que resulta em uma taxa de 3,64%. Sem dúvida, trata-se de casuísticas diversas, pois em Cape Town a mediana de contagem de células CD4 do grupo analisado era de 97 cels/mm³, enquanto que o presente estudo apresentou mediana de 50 cels/mm³. Na verdade, apenas 336 indivíduos do estudo africano tinham CD4 abaixo de 100 céls/mm³, resultando em uma prevalência de 13% neste grupo específico, assemelhando-se à observada em nosso estudo. Portanto, a menor prevalência geral do estudo da África se deve ao fato da inclusão de muitos pacientes com CD4 acima de 100 céls/mm³. Em 2015, outra publicação apresentou um estudo prospectivo, de 2011 a 2014 na mesma cidade, Cape Town, sobre a prevalência de antigenemia em HIV positivos com CD4 igual ou abaixo de 100 céls/mm³, excluindo aqueles com história progressiva da doença e utilizando LFA. A prevalência encontrada foi de 4,34% (28/645) (Longley et al., 2015). Destes 28 pacientes, apenas 10

consentiram a realização de PL e quatro destes pacientes (40%) apresentaram positividade no LFA do líquido. Todos os quatro pacientes com LFA positivo no líquido também foram positivos na amostra de urina, que têm se mostrado um espécime clínico útil e não-invasivo para utilizar no rastreamento de criptococose (McMullan et al., 2012; Jarvis et al., 2011). Outros estudos recentes na África encontraram taxas de prevalência similares. Em Soweto, na África do Sul, a prevalência encontrada entre pacientes com CD4 abaixo de 100 céls/mm³ foi de 2,8% (Govender et al., 2015). A menor prevalência observada neste estudo prospectivo de Cape Town em relação ao retrospectivo da mesma cidade, não é clara, mas pode ser atribuída à melhor disponibilidade e acesso à terapia antirretroviral.

Em outro país da África, Tanzânia, o rastreamento de CrAg foi realizado em pacientes HIV positivos internados (Wajanga et al., 2011), de setembro de 2009 a janeiro de 2010. Apresentou prevalência geral de 5,1% (17/333), dos quais 15 pacientes tiveram diagnóstico confirmado de meningite criptocócica pelo látex e tinta naquim positivos no líquido. Além destes, dois pacientes apresentavam lesões cutâneas características de criptococose, mas sem isolamento do agente. No entanto, a maioria dos pacientes deste estudo apresentavam CD4 acima de 100 céls/mm³, fora da principal faixa de risco de aquisição da criptococose. Apenas 93 pacientes dos 333 da casuística tinham CD4 abaixo de 100 céls/mm³ e nestes casos, 14 apresentavam meningite criptocócica, ou seja, 15%. Comparando com nosso estudo, a taxa de prevalência de CrAg foi similar na principal faixa de risco, mas observou-se menor ocorrência de meningite criptocócica no INI, 6,74% (6/89), neste mesmo grupo.

Na nossa casuística tivemos quatro casos de antigenemia isolada e seis casos de criptococose. Portanto, excluindo-se estes seis casos da micose, a taxa correspondente à antigenemia isolada foi de 4,81% (4/83). Antigenemia criptocócica em pacientes assintomáticos foi analisada em Uganda, em um estudo retrospectivo direcionado à pacientes HIV positivos, CD4 abaixo de 100 céls/mm³, antes do início de TARV (Liechty et al., 2007). Neste estudo foram excluídos pacientes com queixa de cefaleia e febre e encontraram uma prevalência de 5,8% (22/377). Três destes pacientes positivos no rastreamento desenvolveram doença criptocócica no decorrer do seguimento de 12 semanas e, além destes, mais quatro que eram negativos inicialmente também desenvolveram criptococose. Cabe ressaltar que a pesquisa do antígeno foi realizada pelo método de aglutinação em látex e em soro estocado, já que o estudo foi retrospectivo, o que pode ter contribuído para diminuição da sensibilidade do teste. Em nosso estudo, cuja pesquisa de antígeno foi realizada através de LFA, técnica com

sensibilidade maior que a de látex, e em soro fresco, a prevalência de antigenemia isolada de 4,81% foi concluída após a pesquisa do fungo ser negativa tanto no líquido, quanto na hemocultura, já que praticamente todos os pacientes apresentavam sintomas inespecíficos que foram atribuídos à outra doença, causa da internação do indivíduo.

No Cambodja (Micol et al., 2007), realizou-se rastreio de CrAg em 327 pacientes VT com CD4 abaixo de 200 céls/mm³, revelando uma prevalência de 18% (59/327) de CrAg positivo, sendo que 10 pacientes foram considerados como antigenemia isolada, 3,05%, comparável à nossa taxa, de 4,81%.

No Vietnã (Smith et al., 2013), o rastreio de CrAg foi realizado em pacientes VT e com CD4 abaixo de 100 céls/mm³, encontrando prevalência de 4% (9/226). A variação das prevalências em diferentes países pode ser atribuída a diferenças populacionais, origem do recrutamento (ambulatorial ou hospitalar), exposição ambiental aos agentes, sensibilidade do teste usado para detecção do antígeno, pois o látex é 3-4 vezes menos sensível do que o LFA (Longley et al., 2015; Jarvis et al., 2011), diagnóstico tardio de aids, acesso e aderência ao esquema de tratamento.

A sensibilidade da técnica de Aglutinação em Látex em comparação ao LFA já foi demonstrada em alguns estudos (Boulware et al., 2014b; Binnicker et al., 2012), como por exemplo na Colômbia (Escandón et al., 2013), onde foi realizada a comparação entre os testes e verificada a prevalência neste país. Com a AL, a positividade das amostras foi 16/421, resultando em uma prevalência de 3,8%. Já quando utilizada LFA nas mesmas amostras de soro, a positividade foi de 29/421, aumentando a prevalência para 6,9% neste país. A Colômbia é o único país da América do Sul a publicar dados sobre prevalência de CrAg em pacientes com aids. No Brasil não identificamos publicações específicas relacionadas a este tema até o momento.

Nos países de primeiro mundo, a prevalência de CrAg é baixa. Nos Estados Unidos da América, uma coorte de pacientes infectados pelo HIV com CD4 abaixo de 100 céls/mm³ foi utilizada para analisar a prevalência da micose. Foram utilizados soros estocados, 1872 amostras, de 1986 a 2012 e a técnica de LFA. Foi encontrada prevalência de 2,9% (McKenney et al., 2014). Na Alemanha, outro estudo retrospectivo, de 2005 a 2014, com 5461 pacientes internados revelou prevalência de 1,6% nos indivíduos com CD4 abaixo de 100 céls/mm³ e 1,1% naqueles com contagem entre 100 e 200 céls/mm³ (Katchanov et al., 2015).

No presente estudo, os pacientes CrAg positivos eram significativamente mais jovens do que os CrAg negativos, resultado possivelmente explicado pelo fato de que três dos dez pacientes CrAg positivos eram casos de transmissão vertical, com 18, 21 e 24 anos de convivência com o HIV sem controle virológico adequado. Em relação aos sinais e sintomas sabe-se que os pacientes com grave imunodepressão não apresentam sinais inflamatórios clássicos e aspectos característicos de meningite, como cefaleia ou rigidez de nuca. De fato, estes foram os sintomas menos frequentes na casuística analisada. Apesar de rigidez de nuca ter sido o único sintoma com diferença estatística, estava presente em apenas três dos seis pacientes diagnosticados com meningite e não poderia nortear a suspeita diagnóstica, pois sua ausência não exclui esta forma da doença (Perfect and Casadevall, 2002). Na Tanzânia, rigidez de nuca também foi fator associado à meningite criptocócica em análise multivariada, além de febre, alteração do estado mental e CD4 abaixo de 100 céls/mm³ (Wajanga et al., 2011). A inespecificidade dos sintomas de meningite criptocócica ou doença disseminada é observada em diferentes estudos e não deve ser utilizada como exclusão da doença ativa frente a um caso de CrAg positivo. É fundamental realizar exames laboratoriais para isolamento em cultivo de sangue, exame direto de lesões detectadas ao exame clínico, bem como, realizar o teste de CrAg no líquido, mesmo com celularidade normal. No presente estudo, os pacientes diagnosticados com meningite criptocócica tinham celularidade normal, com exceção de um, com 25 céls/mm³. Toda a nossa casuística foi de pacientes internados que apresentavam sintomas que podem ocorrer tanto na criptococose como em outras doenças relacionadas à aids.

Embora a mortalidade geral observada tenha sido elevada (13,5%), não houve diferença na mortalidade entre os grupos de pacientes com CrAg positivo e negativo. Isto mostra que o grupo CrAg negativo englobava pacientes gravemente imunodeprimidos com doenças de alta complexidade e outras infecções oportunistas, predominando no trato respiratório, como PCP e tuberculose. Chama atenção nesta casuística o quantitativo de pacientes sem adesão à TARV e os casos de VT com diagnóstico tardio de aids. Este quadro nos reporta ao passado, quando não havia terapia antirretroviral potente e existia dificuldade de acesso ao tratamento. A taxa de prevalência observada, de 13,5% foi bastante similar à observada em necropsias de pacientes HIV no Brasil. Em Porto Alegre se realizou necropsia de 138 pacientes com aids, com 12% de criptococose cerebral (Wainstein et al., 1992). Em Minas Gerais, a prevalência de criptococose na necropsia de 284 pacientes infectados pelo HIV foi de 15,8% (Silva et al., 2012). Em São Paulo e no Rio de Janeiro, 252 pacientes infectados pelo HIV foram necropsiados e 13,5% tinham criptococose cerebral (Chimelli et al., 1992).

A taxa de mortalidade para casos de meningite criptocócica mostra amplas variações de acordo com a região geográfica e estado de desenvolvimento sócio-econômico. Por exemplo, na África Subsaariana a letalidade em 90 dias foi estimada em 70%, enquanto que na América Latina, Europa Oriental e Ásia Central foi 55% e na Europa Ocidental, América do Norte e Oceania 9% (Park et al., 2009). No estudo da Tanzânia citado anteriormente (Wajanga et al., 2011), a letalidade foi elevada, dez dos 15 pacientes diagnosticados com meningite criptocócica morreram em decorrência desta doença, enquanto que no nosso estudo apenas uma morte foi relacionada à criptococose. Deve-se ponderar que naquela coorte os casos foram tratados apenas com fluconazol, enquanto que no INI-Fiocruz os pacientes CrAg positivos foram submetidos à punção lombar e aqueles diagnosticados com meningite foram tratados com Anfotericina B, associado ou não à fluconazol ou 5-flucitosina.

Em relação à IRIS, sabe-se que a mortalidade da forma paradoxal varia de 27-83% na África e 0-20% na América do Norte, Europa e Sudeste da Ásia (Haddow et al., 2010), no entanto, nenhum dos pacientes diagnosticados com meningite teve este diagnóstico. Nenhum deles estava em uso de terapia antirretroviral no momento do diagnóstico da criptococose e estas drogas foram iniciadas pelo menos três semanas após a terapia antifúngica. As duas recaídas observadas foram após abandono do tratamento.

Sem dúvida, é difícil comparar dados de letalidade nas séries reportadas; os estudos utilizam períodos de seguimento variados, de duas semanas até um ano. No presente estudo, a observação possível foi de 6 semanas, mas esta será revista para acrescentar um período de observação de 12 semanas para comparações futuras. Outro aspecto importante a ser considerado foi que os pacientes com criptococose tratados nesta casuística foram submetidos à punção lombar seriada para controle da pressão intracraniana, fator fundamental para o prognóstico (Rolfes et al., 2014). A medição da pressão intracraniana não foi avaliada, no entanto, segundo Rolfes e colaboradores (2014), que utilizou dados do estudo COAT, a PL teve benefício em todos os pacientes com meningite criptocócica, independente do valor da pressão líquórica (Rolfes et al. 2014). Portanto, consideramos que o pronto início da terapia antifúngica baseado em Anfotericina B aliado a este procedimento resultou em baixa letalidade inicial, apesar da grave imunodepressão observada nestes pacientes, considerado fator fundamental para o prognóstico.

Outro estudo analisou uma coorte de HIV positivos e criptococose de cinco centros da África, encontrando significância estatística em relação à mortalidade em duas semanas para alteração do estado mental, alta carga fúngica, idade avançada e leucometria de sangue periférico alta (Jarvis et al., 2014). No presente estudo, o número baixo de indivíduos com meningite criptocócica não permitiu a identificação de fatores específicos possivelmente associados ao óbito. Dos três óbitos observados nos dez pacientes CrAg positivos, apenas um foi relacionado à criptococose, que neste caso era disseminada, com meningite e lesão cerebral, evoluindo para coma e falência de múltiplos órgãos, falecendo em 12 semanas. Os outros dois óbitos foram em pacientes com antigenemia isolada, sendo atribuído a outras causas (sepsis e linfoma), um deles em menos de seis semanas.

Na coorte geral, o único fator significativamente associado ao óbito foi hipoxemia, o que pode refletir o estado avançado de imunossupressão e infecções oportunistas simultâneas ou subsequentes. Na presente casuística havia 17 casos de tuberculose (19,10%), o que demonstra a avançada imunossupressão. Não ocorreu associação de criptococose em atividade simultânea com tuberculose ativa. Em um caso de antigenemia criptocócica havia história pregressa de tuberculose com extensa destruição da arquitetura pulmonar, que o levou a pneumonias de repetição. Outro caso de antigenemia isolada estava internado com diagnóstico ativo de tuberculose. Dois casos de criptococose ocorreram simultaneamente com PCP grave em um paciente VT e outro em uso irregular de TARV. Nove dos dez pacientes com CrAg positivo apresentavam infiltrados pulmonares. Dos quatro pacientes com antigenemia isolada, todos apresentavam alteração na imagem pulmonar, ou por tuberculose ou por pneumonia bacteriana. Dos outros seis pacientes com criptococose, um não tinha infiltrado pulmonar. Os outros cinco apresentavam infiltrados relacionados à criptococose, antecedentes de tuberculose e pneumocistose associada. Sabe-se que a infecção por *Mycobacterium tuberculosis* causa alterações imuno-endócrinas que afetam diretamente a imunidade celular (Bottasso et al. 2009), predispondo o indivíduo com esta infecção à outras doenças oportunistas, como a criptococose. Na literatura, encontram-se relatos de caso desta coinfeção (Huang et al., 2014; Kakeya et al., 2014), assim como, coinfeção com pneumocitose (Javier et al., 2012).

O rastreio de CrAg e tratamento preemptivo com fluconazol em regiões onde a prevalência de CrAg seja acima de 3% foram recomendados pela OMS, com base em estudos de custo-efetividade (Organização Mundial de Saúde, 2011; Jennie McKenney et al., 2014).

Na África do Sul, o estudo de custo-efetividade de rastreio de CrAg foi realizado comparando quatro grupos: 1) padrão de rotina de atendimento (não realizar rastreio antes do início da TARV); 2) profilaxia primária com fluconazol em todos os pacientes que iniciam TARV; 3) rastreio com CrAg em todos os pacientes, seguido de fluconazol para aqueles que forem positivos no teste; 4) rastreio com CrAg em todos os pacientes, seguidos de punção lombar naqueles positivos no teste e tratamento com Anfotericina se houver meningite ou fluconazol se não houver doença do SNC. Concluíram que ambas as estratégias de rastreio de CrAg eram superiores ao padrão de rotina. No entanto, o que se mostrou mais aceito por custo neste país foi a estratégia número 3, ou seja, uso de fluconazol sem pesquisa de meningite por PL (Jarvis et al., 2013). Esta conduta proposta para a África do Sul é norteada por um cenário de recursos limitados e dificuldades econômicas e implica em tratar meningite criptocócica não diagnosticada com monoterapia com fluconazol. Sabe-se que a antigenemia pode ser detectada no sangue em uma média de 22 dias (5-234) antes que o paciente desenvolva meningite clinicamente (Govender et al., 2015; French et al., 2002), permitindo uma detecção precoce da criptococose na fase subclínica.

Com os dados de custo-efetividade encontrados na literatura e com base na recomendação da OMS, a prevalência encontrada no presente estudo justifica o uso do rastreamento do CrAg pelo LFA na nossa população. Deve-se ressaltar que nenhum paciente considerado com antigenemia isolada no nosso estudo desenvolveu criptococose clínica no decorrer do seguimento, independente de ter ou não sintomas como cefaleia ou febre, o que pode ter associação com o tratamento preemptivo com fluconazol, recomendado pela OMS nestes casos (Organização Mundial de Saúde, 2011). Por outro lado, é fundamental que seja afastada a doença invasiva, uma vez que a monoterapia com azólico em meningite criptocócica não é recomendada pelos guias internacionais e brasileiro (Moretti et al., 2008; Perfect et al., 2010; Masur et al., 2014; Panel..., 2016) e está ligada à recaída com variantes resistentes e pior prognóstico. A resistência dos agentes da criptococose aos azólicos é aspecto importante e está sendo observado também para outros fungos, como *Aspergillus fumigatus* e, neste caso, atribuído ao uso destas substâncias na agricultura (Chowdhary et al., 2013). Entre os mecanismos de resistência à estas drogas, sabe-se que a heterorresistência de leveduras como *Cryptococcus* spp. gera variantes com alteração genética, duplicação cromossômica e aumento de virulência (Sionov et al., 2013). O uso indiscriminado de fluconazol e outros azólicos, tanto em humanos, quanto na agricultura, tem impactos ainda pouco conhecidos (Cheong and McCormack, 2013).

Conclui-se que o rastreio de CrAg na nossa casuística é justificado pela alta prevalência encontrada; a investigação da levedura com hemocultura e punção lombar é altamente recomendada naqueles com CrAg positivo, independente dos sintomas estarem presentes ou ausentes; o pronto início da terapia antifúngica aliado à punções lombares seriadas para controle da HIC nos pacientes com meningite resultou em baixa letalidade inicial, apesar da grave imunodepressão observada nestes pacientes; o tratamento preemptivo com fluconazol nos casos de antigenemia isolada previniu o desenvolvimento de meningoencefalite até o final do período de seguimento.

No presente estudo existiram algumas limitações, como o pequeno número de indivíduos analisados, o que pode ter limitado o encontro de diferenças estatísticas significantes nos preditores de mortalidade e fatores associados à positividade do CrAg. Além disso, o fato da casuística ter sido apenas de fonte hospitalar selecionou um viés de gravidade da Coorte, dificultando a separação entre pacientes assintomáticos e sintomáticos, que seria ideal para compararmos com outros estudos de prevalência que utilizaram pacientes ambulatoriais. No entanto, foi relevante para implementar o rastreio de CrAg em todo paciente infectado pelo HIV com CD4 abaixo de 200 céls/mm³. Sugerimos novos estudos, com um número maior de indivíduos, incluindo fonte ambulatorial, para estimar com mais precisão a prevalência da criptococose na população do INI assim como estudos multicêntricos, contribuindo com publicações relevantes na literatura médica sobre esta impactante micose sistêmica associada à população vivendo com HIV/aids.

8. CONCLUSÕES

1) A prevalência de CrAg positivo nos pacientes infectados pelo HIV com imunossupressão grave internados na enfermaria do INI no período de janeiro a dezembro de 2015 foi estimada em 11,23%. A prevalência de meningite criptocócica foi de 6,74% e de antigenemia isolada, de 4,81%. Com estes dados, recomenda-se o rastreamento de CrAg em todo paciente com CD4 abaixo de 200 céls/mm³ no INI-Fiocruz; caso positivo, proceder com investigação laboratorial da presença de meningite (hemocultura e PL) e tratamento preemptivo naqueles com antigenemia isolada.

2) Os pacientes com criptococose apresentaram média de CD4 de 28,7 céls/mm³, entre aqueles com antigenemia isolada a média foi de CD4 82.8 céls/mm³. A mediana de CD4 entre os indivíduos com meningite foi menor do que aqueles sem doença clínica (antigenemia isolada + pacientes CrAg negativos). A análise do líquido dos dois grupos foi semelhante, não sendo possível distinguir meningite apenas pela citologia, sendo necessário o exame micológico e a pesquisa do CrAg no líquido. Rigidez de nuca foi o único sintoma significativo associado à CrAg positivo. No grupo CrAg positivo, os pacientes eram mais jovens do que os do grupo CrAg negativos. Na análise laboratorial, nenhuma variável apresentou associação entre os grupos CrAg positivo e negativo.

3) A letalidade até o desfecho dos CrAg positivos foi de 30% (3/10), sendo um óbito em quatro semanas decorrente de linfoma, outro em oito semanas devido à sepse e outro em 12 semanas com criptococose como causa associada. Considerando a letalidade em seis semanas proposta neste estudo, a taxa encontrada foi de 10% nos pacientes CrAg positivos e 13,92% nos CrAg negativos. A letalidade no grupo CrAg negativo foi atribuído à outras infecções oportunistas, como tuberculose, seguido de PCP e sepse de foco pulmonar.

9. REFERÊNCIAS

- Ampel. Guidelines for the prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention, the National Institutes of Health, and the HIV Medical Association of the Infectious Diseases Society of America.
- Abdool Karim SS, Naidoo K, Grobler A, Padayatchi N, Baxter C, Gray A, et al. Timing of initiation of antiretroviral drugs during tuberculosis therapy. *N Engl J Med*. 2010 Feb 25;362(8):697–706.
- Araujo G de S, Fonseca FL, Pontes B, Torres A, Cordero RJB, Zancopé-Oliveira RM, et al. Capsules from Pathogenic and Non-Pathogenic *Cryptococcus* spp. Manifest Significant Differences in Structure and Ability to Protect against Phagocytic Cells. *PLoS ONE*. 2012 Jan 12;7(1):e29561.
- Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier Health Sciences; 2014.
- Beyene T, Woldeamanuel Y, Asrat D, Ayana G, Boulware DR. Comparison of Cryptococcal Antigenemia between Antiretroviral Naïve and Antiretroviral Experienced HIV Positive Patients at Two Hospitals in Ethiopia. *PLoS ONE*. 2013;8.
- Binnicker MJ, Jespersen DJ, Bestrom JE, Rollins LO. Comparison of Four Assays for the Detection of Cryptococcal Antigen. *Clin Vaccine Immunol CVI*. 2012 Dec;19(12):1988–90.
- Bottasso O, Bay ML, Besedovsky H, del Rey A. Immunoendocrine alterations during human tuberculosis as an integrated view of disease pathology. *Neuroimmunomodulation*. 2009;16(2):68–77.
- Bouklas T, Fries BC. Aging: an emergent phenotypic trait that contributes to the virulence of *Cryptococcus neoformans*. *Future Microbiol*. 2015;10(2):191–7.
- Boulware DR, Meya DB, Muzoora C, Rolfes MA, Huppler Hullsiek K, Musubire A, et al. Timing of Antiretroviral Therapy after Diagnosis of Cryptococcal Meningitis. *N Engl J Med*. 2014 a Jun 26;370(26):2487–98.
- Boulware DR, Rolfes MA, Rajasingham R, von Hohenberg M, Qin Z, Taseera K, et al. Multisite Validation of Cryptococcal Antigen Lateral Flow

- Assay and Quantification by Laser Thermal Contrast. *Emerg Infect Dis.* 2014 b Jan;20(1):45–53.
- Brito-Santos F, Barbosa GG, Trilles L, Nishikawa MM, Wanke B, Meyer W, et al. Environmental isolation of *Cryptococcus gattii* VGII from indoor dust from typical wooden houses in the deep Amazonas of the Rio Negro basin. *PloS One.* 2015;10(2):e0115866.
- Chang YC, Kwon-Chung KJ. Isolation, Characterization, and Localization of a Capsule-Associated Gene, CAP10, of *Cryptococcus neoformans*. *J Bacteriol.* 1999 Sep;181(18):5636–43.
- Chang YC, Penoyer LA, Kwon-Chung KJ. The second capsule gene of *cryptococcus neoformans*, CAP64, is essential for virulence. *Infect Immun.* 1996 Jun;64(6):1977–83.
- Chayakulkeeree M, Perfect JR. *Cryptococcosis.* Vol. 20. 2006.
- Chen SC-A, Meyer W, Sorrell TC. *Cryptococcus gattii* infections. *Clin Microbiol Rev.* 2014 Oct;27(4):980–1024.
- Cheong JWS, McCormack J. Fluconazole resistance in cryptococcal disease: emerging or intrinsic? *Med Mycol.* 2013 Apr;51(3):261–9.
- Chimelli L, Rosemberg S, Hahn MD, Lopes MB, Netto MB. Pathology of the central nervous system in patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV): a report of 252 autopsy cases from Brazil. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 1992 Oct;18(5):478–88.
- Chowdhary A, Kathuria S, Xu J, Meis JF. Emergence of Azole-Resistant *Aspergillus fumigatus* Strains due to Agricultural Azole Use Creates an Increasing Threat to Human Health. *PLoS Pathog* [Internet]. 2013 Oct [cited 2016 Mar 2];9(10). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3812019/>
- Christianson JC, Engber W, Andes D. Primary cutaneous cryptococcosis in immunocompetent and immunocompromised hosts. *Med Mycol.* 2003 Jun;41(3):177–88.
- Diaz MR, Boekhout T, Theelen B, Fell JW. Molecular sequence analyses of the intergenic spacer (IGS) associated with rDNA of the two varieties of the pathogenic yeast, *Cryptococcus neoformans*. *Syst Appl Microbiol.* 2000 Dec;23(4):535–45.
- Ellis DH, Pfeiffer TJ. Ecology, life cycle, and infectious propagule of *Cryptococcus neoformans*. *Lancet Lond Engl.* 1990 Oct 13;336(8720):923–5.
- Escandón P, Lizarazo J, Agudelo CI, Chiller T, Castañeda E. Evaluation of a rapid lateral flow immunoassay for the detection of cryptococcal antigen

- for the early diagnosis of cryptococcosis in HIV patients in Colombia. *Med Mycol.* 2013 Oct;51(7):765–8.
- Espinel-Ingroff A, Kidd SE. Current trends in the prevalence of *Cryptococcus gattii* in the United States and Canada. *Infect Drug Resist.* 2015;8:89–97.
- F. Gatti, R. Eeckels. An atypical strain of *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuillemin 1894. Part I. Description of the disease and of the strain. *Ann Soc Belge Méd Trop.* 1970;50(6):689–94.
- Findley K, Rodriguez-Carres M, Metin B, Kroiss J, Fonseca Á, Vilgalys R, et al. Phylogeny and Phenotypic Characterization of Pathogenic *Cryptococcus* Species and Closely Related Saprobiotic Taxa in the Tremellales. *Eukaryot Cell.* 2009 Mar;8(3):353–61.
- Franzot SP, Hamdan JS, Currie BP, Casadevall A. Molecular epidemiology of *Cryptococcus neoformans* in Brazil and the United States: evidence for both local genetic differences and a global clonal population structure. *J Clin Microbiol.* 1997 Sep;35(9):2243–51.
- Franzot SP, Salkin IF, Casadevall A. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*: Separate Varietal Status for *Cryptococcus neoformans* Serotype A Isolates. *J Clin Microbiol.* 1999 Mar;37(3):838–40.
- French N, Gray K, Watera C, Nakiyingi J, Lugada E, Moore M, et al. Cryptococcal infection in a cohort of HIV-1-infected Ugandan adults. *AIDS Lond Engl.* 2002 May 3;16(7):1031–8.
- Gates-Hollingsworth MA, Kozel TR. Serotype sensitivity of a lateral flow immunoassay for cryptococcal antigen. *Clin Vaccine Immunol CVI.* 2013 Apr;20(4):634–5.
- Govender NP, Roy M, Mendes JF, Zulu TG, Chiller TM, Karstaedt AS. Evaluation of screening and treatment of cryptococcal antigenaemia among HIV-infected persons in Soweto, South Africa. *HIV Med.* 2015 Sep;16(8):468–76.
- Haddow LJ, Colebunders R, Meintjes G, Lawn SD, Elliott JH, Manabe YC, et al. Cryptococcal Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome in HIV-1-infected individuals: Literature Review and Proposed Clinical Case Definitions. *Lancet Infect Dis.* 2010 Nov;10(11):791–802.
- Hagen F, Colom MF, Swinne D, Tintelnot K, Iatta R, Montagna MT, et al. Autochthonous and Dormant *Cryptococcus gattii* Infections in Europe. *Emerg Infect Dis.* 2012 Oct;18(10):1618–24.
- Hajjeh RA, Conn LA, Stephens DS, Baughman W, Hamill R, Graviss E, et al. Cryptococcosis: population-based multistate active surveillance and risk factors in human immunodeficiency virus-infected persons. Cryptococcal Active Surveillance Group. *J Infect Dis.* 1999;179:449–54.

- Havlir DV, Kendall MA, Ive P, Kumwenda J, Swindells S, Qasba SS, et al. Timing of Antiretroviral Therapy for HIV-1 Infection and Tuberculosis. *N Engl J Med*. 2011 Oct 20;365(16):1482–91.
- Horta JA, Staats CC, Casali AK, Ribeiro ÂM, Schrank IS, Schrank A, et al. Epidemiological aspects of clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* isolates in the Brazilian state Rio Grande do Sul. *Med Mycol*. 2002 Dec 1;40(6):565–71.
- Huang C-L, Chen C-T, Wu S-W, Lin T-Y. Simultaneous coinfection with *Cryptococcus neoformans* and *Mycobacterium tuberculosis* in an adult. *QJM*. 2014 Mar 1;107(3):223–4.
- Igreja RP, Lazéra MDS, Wanke B, Galhardo MCG, Kidd SE, Meyer W. Molecular epidemiology of *Cryptococcus neoformans* isolates from AIDS patients of the Brazilian city, Rio de Janeiro. *Med Mycol*. 2004 Jun 1;42(3):229–38.
- Jarvis JN, Bicanic T, Loyse A, Namarika D, Jackson A, Nussbaum JC, et al. Determinants of Mortality in a Combined Cohort of 501 Patients With HIV-Associated Cryptococcal Meningitis: Implications for Improving Outcomes. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2014 Mar 1;58(5):736–45.
- Jarvis JN, Harrison TS. HIV-associated cryptococcal meningitis. *AIDS Lond Engl*. 2007 Oct 18;21(16):2119–29.
- Jarvis JN, Harrison TS, Lawn SD, Meintjes G, Wood R, Cleary S. Cost effectiveness of cryptococcal antigen screening as a strategy to prevent HIV-associated cryptococcal meningitis in South Africa. *PloS One*. 2013;8(7):e69288.
- Jarvis JN, Lawn SD, Vogt M, Bangani N, Wood R, Harrison TS. Screening for Cryptococcal Antigenaemia in Patients Accessing an Antiretroviral Treatment Program in South Africa. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2009 Apr 1;48(7):856–62.
- Jarvis JN, Percival A, Bauman S, Pelfrey J, Meintjes G, Williams GN, et al. Evaluation of a Novel Point-of-Care Cryptococcal Antigen Test on Serum, Plasma, and Urine From Patients With HIV-Associated Cryptococcal Meningitis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2011 Nov 15;53(10):1019–23.
- Javier B, Susana L, Santiago G, Alcides T. Pulmonary coinfection by *Pneumocystis jiroveci* and *Cryptococcus neoformans*. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012 Jan;2(1):80–2.
- Jennie McKenney, Rachel M. Smith, Tom M. Chiller, Roger Detels, Audrey French, Joseph Margolick, et al. Prevalence and Correlates of

Cryptococcal Antigen Positivity Among AIDS Patients — United States, 1986–2012. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2014 Jul 11;63.

Jerez Puebla LE. Fungal Infections in Immunosuppressed Patients. In: Metodiev K, editor. *Immunodeficiency* [Internet]. InTech; 2012 [cited 2016 Jan 5]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/immunodeficiency/fungal-infections-in-immunosuppressed-patients>

Joseph Heitman, Thomas R. Kozel, Kyung J. Kwon-Chung, John R. Perfect, Arturo Casadevall. *Cryptococcus: from human pathogen to model yeast.* Washington; 2011.

Junior P, Laerte V, Galhardo MCG, Lazéra M, Wanke B, Reis RS, et al. Importance of culture of urine in the diagnosis of AIDS associated cryptococcosis. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2006 Apr;39(2):230–2.

Takeya H, Izumikawa K, Yamada K, Obata Y, Nishino T, Takazono T, et al. Three cases of concurrent infection with *Mycobacterium tuberculosis* and *Cryptococcus neoformans*. *Intern Med Tokyo Jpn.* 2014;53(15):1685–92.

Katchanov J, Jefferys L, Tominski D, Wöstmann K, Slevogt H, Arastéh K, et al. Cryptococcosis in HIV-infected hospitalized patients in Germany: Evidence for routine antigen testing. *J Infect.* 2015 Jul;71(1):110–6.

Kidd SE, Hagen F, Tschärke RL, Huynh M, Bartlett KH, Fyfe M, et al. A rare genotype of *Cryptococcus gattii* caused the cryptococcosis outbreak on Vancouver Island (British Columbia, Canada). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Dec 7;101(49):17258–63.

Knoke M, Schwesinger G. One hundred years ago: the history of cryptococcosis in Greifswald. *Medical mycology in the nineteenth century. Mycoses.* 1994 Aug;37(7-8):229–33.

Kurtzman C, Fell JW. *The Yeasts - A Taxonomic Study.* Elsevier; 1998.

Kwon-Chung KJ, Boekhout T, Fell JW, Diaz M. (1557) Proposal to Conserve the Name *Cryptococcus gattii* against *C. honduricus* and *C. bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenomycetes, Tremellomycetidae). *Taxon.* 2002 Nov;51(4):804.

Kwon-Chung KJ, Polacheck I, Bennett JE. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). *J Clin Microbiol.* 1982 a Mar;15(3):535–7.

Kwon-Chung KJ, Polacheck I, Popkin TJ. Melanin-lacking mutants of *Cryptococcus neoformans* and their virulence for mice. *J Bacteriol.* 1982 b Jun;150(3):1414–21.

- Kwon-Chung KJ, Rhodes JC. Encapsulation and melanin formation as indicators of virulence in *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*. 1986 Jan;51(1):218–23.
- Kwon-Chung KJ, Varma A. Do major species concepts support one, two or more species within *Cryptococcus neoformans*? *FEMS Yeast Res*. 2006;6:574–87.
- Lazéra M, Gutierrez-Galhardo MC, Cavalcanti MAS, Wanke B. Criptococose (Tolurose, Blastomicose Europeia, Doença de Busse-Buschke). In: Coura JR. *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013. p. 1250-260.
- Lazéra MS, Pires FD, Camillo-Coura L, Nishikawa MM, Bezerra CC, Trilles L, et al. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* in decaying wood forming hollows in living trees. *J Med Vet Mycol Bi-Mon Publ Int Soc Hum Anim Mycol*. 1996 Apr;34(2):127–31.
- Lazera MS, Salmito Cavalcanti MA, Londero AT, Trilles L, Nishikawa MM, Wanke B. Possible primary ecological niche of *Cryptococcus neoformans*. *Med Mycol*. 2000 Oct;38(5):379–83.
- Leão CA, Ferreira-Paim K, Andrade-Silva L, Mora DJ, Silva PR da, Machado AS, et al. Primary cutaneous cryptococcosis caused by *Cryptococcus gattii* in an immunocompetent host. *Med Mycol*. 2011 May 1;49(4):352–5.
- Leimann BCQ, Koifman RJ. Cryptococcal meningitis in Rio de Janeiro State, Brazil, 1994-2004. *Cad Saúde Pública*. 2008 Nov;24(11):2582–92.
- Liechty CA, Solberg P, Were W, Ekwaru JP, Ransom RL, Weidle PJ, et al. Asymptomatic serum cryptococcal antigenemia and early mortality during antiretroviral therapy in rural Uganda. *Trop Med Int Health TM IH*. 2007 Aug;12(8):929–35.
- Lin Y-Y, Shiao S, Fang C-T. Risk factors for invasive *Cryptococcus neoformans* diseases: a case-control study. *PloS One*. 2015;10(3):e0119090.
- Litvintseva AP, Thakur R, Reller LB, Mitchell TG. Prevalence of clinical isolates of *Cryptococcus gattii* serotype C among patients with AIDS in Sub-Saharan Africa. *J Infect Dis*. 2005 Sep 1;192(5):888–92.
- Longley N, Harrison TS, Jarvis JN. Cryptococcal immune reconstitution inflammatory syndrome. *Curr Opin Infect Dis*. 2013 Feb;26(1):26–34.
- Longley N, Jarvis JN, Meintjes G, Boule A, Cross A, Kelly N, et al. Cryptococcal Antigen Screening in Patients Initiating ART in South Africa: A Prospective Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2015 Nov 12;civ936.

- Magarey FR, Denton PH. *Torula Histolytica* of Central Nervous System. *Br Med J*. 1948 Jun 5;1(4561):1082–1062.3.
- Makadzange AT, Ndhlovu CE, Takarinda K, Reid M, Kurangwa M, Gona P, et al. Early versus delayed initiation of antiretroviral therapy for concurrent HIV infection and cryptococcal meningitis in sub-saharan Africa. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2010 Jun 1;50(11):1532–8.
- Martins LMS, Wanke B, Lazéra M dos S, Trilles L, Barbosa GG, Macedo RCL de, et al. Genotypes of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* as agents of endemic cryptococcosis in Teresina, Piauí (northeastern Brazil). *Memórias Inst Oswaldo Cruz*. 2011 Sep;106(6):725–30.
- Masur H, Brooks JT, Benson CA, Holmes KK, Pau AK, Kaplan JE. Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents: Updated Guidelines From the Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health, and HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2014 May 1;58(9):1308–11.
- McClelland CM, Chang YC, Varma A, Kwon-Chung KJ. Uniqueness of the mating system in *Cryptococcus neoformans*. *Trends Microbiol*. 2004 May 1;12(5):208–12.
- McConchie IH, Hayward JI. *Torula Histolytica* (*Cryptococcus Neoformans*) Granuloma of the Lung Treated by Pulmonary Resection. *Postgrad Med J*. 1958 Apr;34(390):190–4.
- McMullan BJ, Halliday C, Sorrell TC, Judd D, Sleiman S, Marriott D, et al. Clinical utility of the cryptococcal antigen lateral flow assay in a diagnostic mycology laboratory. *PloS One*. 2012;7(11):e49541.
- Meyer W, Castañeda A, Jackson S, Huynh M, Castañeda E. Molecular Typing of IberoAmerican *Cryptococcus neoformans* Isolates. *Emerg Infect Dis*. 2003 Feb;9(2):189–95.
- Micol R, Lortholary O, Sar B, Laureillard D, Ngeth C, Dousset J-P, et al. Prevalence, determinants of positivity, and clinical utility of cryptococcal antigenemia in Cambodian HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr 1999*. 2007 Aug 15;45(5):555–9.
- Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS- 2015 [Internet]. 2015a [cited 2016 Jan 24]. Available from: <http://www.aids.gov.br/pagina/publicacoes?page=3>
- Ministério da Saúde. PROTOCOLO CLÍNICO E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS PARA MANEJO DA INFECÇÃO PELO HIV EM ADULTOS. 2015 b;

- Molina-Leyva A, Ruiz-Carrascosa JC, Leyva-Garcia A, Husein-Elahmed H. Cutaneous *Cryptococcus laurentii* infection in an immunocompetent child. *Int J Infect Dis*. 2013 Dec 1;17(12):e1232–e1233.
- Moretti ML, Resende MR, Lazéra MDS, Colombo AL, Shikanai-Yasuda MA. [Guidelines in cryptococcosis--2008]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008 Oct;41(5):524–44.
- Nosanchuk JD, Stark RE, Casadevall A. Fungal Melanin: What do We Know About Structure? *Front Microbiol* [Internet]. 2015 Dec 22 [cited 2016 Jan 23];6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4687393/>
- Organização Mundial de Saúde. Rapid Advice: Diagnosis, Prevention and Management of Cryptococcal Disease in HIV-Infected Adults, Adolescents and Children [Internet]. World Health Organization; 2011 [cited 2016 Jan 9]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK299520/>
- Organização Mundial de Saúde. Adult HIV prevalence (15-49 years), 2013 By WHO region [Internet]. 2014. Available from: http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/HIV_adult_prevalence_2013.png
- Organização Mundial de Saúde. Global Health Observatory (GHO) data [Internet]. WHO. 2016 [cited 2016 Jan 24]. Available from: <http://www.who.int/gho/hiv/en/>
- Osazuwa OF, Dirisu O, Okuonghae E. Cryptococcal antigenemia in anti-retroviral naïve AIDS patients: prevalence and its association with CD4 cell count. *Acta Med Iran*. 2012;50(5):344–7.
- Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, Govender N, Pappas PG, Chiller TM. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS Lond Engl*. 2009 Feb 20;23(4):525–30.
- Perfect JR, Casadevall A. *Cryptococcosis*. Vol. 16. 2002.
- Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, et al. Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2010 Feb 1;50(3):291–322.
- R. Vanbreuseghem, M. Takashio. An Atypical Strain of Cryptococcal neoformans (San Felice) Vuillemin 1894. Part II. Cryptococcal neoformans var. *gattii* var. nov. *Ann Soc Belge Méd Trop*. 1970;50(6):695–702.

- Raso TF, Werther K, Miranda ET, Mendes-Giannini MJS. Cryptococcosis outbreak in psittacine birds in Brazil. *Med Mycol*. 2004 Aug;42(4):355–62.
- Robertson EJ, Najjuka G, Rolfes MA, Akampurira A, Jain N, Anantharanjit J, et al. *Cryptococcus neoformans* Ex Vivo Capsule Size Is Associated With Intracranial Pressure and Host Immune Response in HIV-associated Cryptococcal Meningitis. *J Infect Dis*. 2014 Jan 1;209(1):74–82.
- Rolfes MA, Hullsiek KH, Rhein J, Nabeta HW, Taseera K, Schutz C, et al. The effect of therapeutic lumbar punctures on acute mortality from cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2014 Dec 1;59(11):1607–14.
- Rozenbaum R, Gonçalves AJR, Wanke B, Caiuby MJ, Clemente H, Lazera M dos S, et al. *Cryptococcus neoformans* varieties as agents of cryptococcosis in Brazil. *Mycopathologia*. 1992 Sep;119(3):133–6.
- Rugemalila J, Maro VP, Kapanda G, Ndaro AJ, Jarvis JN. Cryptococcal antigen prevalence in HIV-infected Tanzanians: a cross-sectional study and evaluation of a point-of-care lateral flow assay. *Trop Med Int Health*. 2013;18:1075–9.
- Silva ACAL, Rodrigues BSC, Micheletti AMR, Tostes S, Meneses ACO, Silva-Vergara ML, et al. Neuropathology of AIDS: An Autopsy Review of 284 Cases from Brazil Comparing the Findings Pre- and Post-HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy) and Pre- and Postmortem Correlation. *AIDS Res Treat*. 2012;2012.
- Sionov E, Chang YC, Kwon-Chung KJ. Azole heteroresistance in *Cryptococcus neoformans*: emergence of resistant clones with chromosomal disomy in the mouse brain during fluconazole treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Oct;57(10):5127–30.
- Smith RM, Nguyen TA, Ha HTT, Thang PH, Thuy C, Lien TX, et al. Prevalence of cryptococcal antigenemia and cost-effectiveness of a cryptococcal antigen screening program--Vietnam. *PloS One*. 2013;8(4):e62213.
- Sorrell TC, Ellis DH. Ecology of *Cryptococcus neoformans*. *Rev Iberoam Micol*. 1997 Jun;14(2):42–3.
- Trilles L, Lazera M dos S, Wanke B, Oliveira RV, Barbosa GG, Nishikawa MM, et al. Regional pattern of the molecular types of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008 Aug;103(5):455–62.
- Trilles L, Wang B, Firacative C, Lazera M dos S, Wanke B, Meyer W. Identification of the Major Molecular Types of *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* by Hyperbranched Rolling Circle Amplification. *PLoS ONE* [Internet]. 2014 Apr 15 [cited 2016 Jan

- 17];9(4). Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3988067/>
- Vecchiarelli A, Pericolini E, Gabrielli E, Kenno S, Perito S, Cenci E, et al. Elucidating the immunological function of the *Cryptococcus neoformans* capsule. *Future Microbiol.* 2013 Sep 1;8(9):1107–16.
- Veronesi. *Tratado de Infectologia*. 4th ed. São Paulo: Roberto Focaccia; 2009.
- Wainstein MV, Ferreira L, Wolfenbittel L, Golbspan L, Sprinz E, Kronfeld M, et al. [The neuropathological findings in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): a review of 138 cases]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1992 Jun;25(2):95–9.
- Wajanga BM, Kalluvya S, Downs JA, Johnson WD, Fitzgerald DW, Peck RN. Universal screening of Tanzanian HIV-infected adult inpatients with the serum cryptococcal antigen to improve diagnosis and reduce mortality: an operational study. *J Int AIDS Soc.* 2011 Oct 11;14:48.
- Zolopa A, Andersen J, Powderly W, Sanchez A, Sanne I, Suckow C, et al. Early antiretroviral therapy reduces AIDS progression/death in individuals with acute opportunistic infections: a multicenter randomized strategy trial. *PloS One.* 2009;4(5):e5575.
- Panel on Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents. Guidelines for the prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. [Internet]. [cited 2016 Mar 8]. Available from: http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adult_oi.pdf.

APÊNDICES

**APÊNDICE A – TABELA 5. VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS,
LABORATORIAIS, TRATAMENTO, DIAGNÓSTICO E DESFECHO DE
PACIENTES HIV INCLUÍDOS NO ESTUDO, NO INI-FIOCRUZ, DE
JANEIRO A DEZEMBRO DE 2015**

Tabela 5. Dados demográficos, laboratoriais, tratamento, diagnóstico e desfecho de pacientes HIV incluídos no estudo, no INI-Fiocruz, de janeiro a dezembro de 2015

| ID | COR DE PELE | IDADE | SEXO | CD4 | DIAG HIV | CrAg SORO | CrAg LCR | CULTURA sangue | CULTURA LCR | TRAT FUNG | DIAG | DIAG 2 | DESFECHO | CAUSA ÓBITO | TARV | Óbito em 6 semanas |
|----|-------------|-------|------|-----|----------|-----------|----------|----------------|---------------|--------------------|------------------------|---------------------|--------------|-----------------------|-----------|--------------------|
| 1 | PARDA | 25 | M | 3 | 2015 | POS | POS | C. neoformans | C. neoformans | ANFO B | PCP | CRIPTO DISSEMINADA | ALTA | NA | VT | NÃO |
| 2 | PARDA | 50 | M | 4 | 2015 | POS | POS | C. neoformans | C. neoformans | ANFOB+ FLUCITOSINA | CRIPTO DISSEMINADA | ENCEFALOPATIA | ÓBITO | SEPSE E CRIPTOCO COSE | VT | NÃO |
| 3 | BRANCA | 18 | F | 1 | 1997 | POS | POS | C. neoformans | C. neoformans | ANFO B | CRIPTO DISSEMINADA | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 4 | BRANCA | 24 | F | 28 | 2015 | POS | POS | C. neoformans | C. neoformans | ANFO B + FLUCO | CRIPTO DISSEMINADA | PCP | ALTA | NA | VT | NÃO |
| 5 | PARDA | 30 | M | 106 | 2014 | POS | NA | NEG | NEG | ANFO B + FLUCO | NEUROCRIPTO | HIVAN | ÓBITO | SEPSE | VT | NÃO |
| 6 | NEGRA | 35 | F | 30 | 2010 | POS | POS | NEG | C. neoformans | ANFO B | MENINGITE CRIPTOCÓCICA | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 7 | BRANCA | 36 | F | 94 | 2002 | POS | NEG | NEG | NEG | FLUCO 400 MG/D | PNEUMONIA | LESÃO CEREBRAL A/E | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 8 | BRANCA | 24 | M | 107 | 1990 | POS | NEG | NEG | NEG | FLUCO 200 MG/D | TB PULMONAF | DPOC | ALTA | NA | IRREGULAR | NÃO |
| 9 | NEGRA | 21 | M | 5 | 1993 | POS | NEG | NEG | NEG | FLUCO 400 MG/D | TB DISSEMINADA | LINFOMA NÃO-HODGKIN | TRANS-FERIDO | NA | ABANDONO | ÓBITO |
| 10 | BRANCA | 40 | F | 125 | 2002 | POS | NEG | NEG | NEG | NENHUM | NEUROTOXO | PNEUMONIA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 11 | PARDA | 35 | F | 6 | 1996 | NEG | NA | NEG | NA | | NEUROTOXO | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 12 | PARDA | 66 | M | 158 | 1990 | NEG | NA | NEG | NA | | PNEUMONIA | NA | ALTA | NA | IRREGULAR | NÃO |
| 13 | PARDA | 60 | M | 168 | 2007 | NEG | NEG | NEG | NEG | | LINFOMA NÃO-HODGKIN | NA | ÓBITO | LINFOMA NÃO-HODGKIN | ABANDONO | ÓBITO |
| 14 | PARDA | 40 | F | 8 | 1992 | NEG | NA | NEG | NA | | NEUROTOXO | NA | ALTA | NA | IRREGULAR | NÃO |
| 15 | BRANCA | 42 | F | 20 | 1997 | NEG | NA | NEG | NA | | TB PULMONAF | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 16 | BRANCA | 41 | F | 49 | 2000 | NEG | NA | NEG | NEG | | TB PULMONAF | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 17 | NEGRA | 53 | F | 31 | 1998 | NEG | NA | NEG | NA | | ANEURISMA CEREBRAL | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 18 | NEGRA | 50 | F | 7 | 2000 | NEG | NA | NEG | NA | | COLEDOCOLITÍASE | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 19 | PARDA | 37 | M | 60 | 2001 | NEG | NA | NEG | NA | | PNEUMONIA | PANCREATITE | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 20 | BRANCA | 54 | M | 155 | 2001 | NEG | NA | NEG | NA | | MIELODISPLASIA HIV | PTI | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 21 | PARDA | 52 | M | 116 | 1996 | NEG | NA | NEG | NA | | PNEUMONIA | PCP | ALTA | NA | REGULAR | NÃO |
| 22 | PARDA | 44 | M | 31 | 2002 | NEG | NA | NEG | NA | | NEUROTOXO | NA | ÓBITO | MORTE ENCEFÁLICA | ABANDONO | ÓBITO |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|--------|----|---|-----|------|-----|-----|-----------------------------|-----|--------|--|---------------------|-------|-------|----------------|-------|
| 23 | NEGRA | 58 | M | 40 | 1996 | NEG | NA | NEG | NA | | TB DISSEMI- NADA | NA | ALTA | NA | IRREGU- LAR | NÃO |
| 24 | PARDA | 42 | F | 58 | 2004 | NEG | NEG | NEG | NEG | | NEUROTOXO | CEREBELITE VIRAL | ALTA | NA | IRREGU- LAR | NÃO |
| 25 | BRANCA | 38 | F | NA | 2002 | NEG | NA | NEG | NA | | NEUROTOXO | NA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 26 | BRANCA | 48 | M | 127 | 2005 | NEG | NA | NEG | NA | ANFO B | HISTOPLAS- MOSE DISSEMINA- DA | PCP | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 27 | BRANCA | 50 | M | 299 | 1991 | NEG | NA | NEG | NA | | SEPSE PULMONAR | PCP | ALTA | NA | REGU- LAR | NÃO |
| 28 | BRANCA | 52 | M | 161 | 2006 | NEG | NA | NEG | NA | | SCA | NA | ALTA | NA | IRREGU- LAR | NÃO |
| 29 | BRANCA | 42 | M | 6 | 1998 | NEG | NA | NEG | NEG | ANFO B | MUCORMI- COSE | NA | ÓBITO | SEPSE | IRREGU- LAR | ÓBITO |
| 30 | BRANCA | 50 | M | 20 | 2007 | NEG | NA | NEG | NA | | PCP | PNEUMONI A | ALTA | NA | IRREGU- LAR | NÃO |
| 31 | NEGRA | 31 | M | 34 | 2006 | NEG | NA | NEG | NA | | HERPES GENITAL | HPV | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 32 | BRANCA | 47 | M | 11 | 2006 | NEG | NA | NEG | NA | | SEPSE PULMONAR | NEUROTOX O | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 33 | NEGRA | 39 | F | 41 | 2008 | NEG | NA | C. albicana/ C. glabrata | NA | | CRITOSPO- RIDIOSE | NA | ÓBITO | SEPSE | IRREGU- LAR | ÓBITO |
| 34 | NEGRA | 40 | M | 139 | 2008 | NEG | NEG | NEG | NEG | | LMP | NA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 35 | NEGRA | 26 | F | 186 | 2009 | NEG | NA | NEG | NA | | NEUROTOXO | TB PULMONAR | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 36 | PARDA | 35 | F | 19 | 2009 | NEG | NA | NEG | NA | | HERPES ZOSTER | NA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 37 | NEGRA | 39 | F | 148 | 2007 | NEG | NEG | NEG | NEG | | TB DISSEMI- NADA | NA | ALTA | NA | IRREGU- LAR | NÃO |
| 38 | PARDA | 34 | M | 19 | 2009 | NEG | NA | NEG | NA | | TB PULMO- NAR | NA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 39 | PARDA | 36 | M | 263 | 2009 | NEG | NA | NEG | NA | | OSTEOMIE- LITE | ADENOME- GALIA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 40 | PARDA | 50 | F | 46 | 2006 | NEG | NA | NEG | NA | | NEUROTOXO | LEMP | ALTA | NA | IRREGU- LAR | NÃO |
| 41 | NEGRA | 32 | M | 154 | 2006 | NEG | NA | NEG | NA | | NEUROTOXO | NA | ALTA | NA | IRREGU- LAR | NÃO |
| 42 | BRANCA | 50 | M | 191 | 2008 | NEG | NA | NEG | NA | | LINFOMA DE HODGKIN | SD NEFRÓTICA | ALTA | NA | REGU- LAR | NÃO |
| 43 | NEGRA | 36 | M | 25 | 2009 | NEG | NA | NEG | NA | | PCP | DPOC | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 44 | PARDA | 36 | M | 8 | 2010 | NEG | NA | NEG | NA | | SINUSITE | NA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 45 | PARDA | 45 | M | 80 | 2010 | NEG | NEG | NEG | NEG | | TB PULMONAR | IRIS | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 46 | PARDA | 29 | M | 65 | 2008 | NEG | NA | NEG | NA | | TB PULMONAR | PNEUMONI A | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 47 | PARDA | 35 | F | 109 | 1999 | NEG | NEG | NEG | NEG | | HIPERTEN- SÃO PULMONAR | NA | ALTA | NA | IRREGU- LAR | NÃO |
| 48 | BRANCA | 27 | M | 13 | 2010 | NEG | NA | NEG | NA | | DIARREIA BACTERIANA | NA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 49 | PARDA | 34 | M | 19 | 2010 | NEG | NEG | NEG | NEG | | PCP | TB DISSEMI- NADA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 50 | PARDA | 29 | M | 185 | 2011 | NEG | NA | NEG | NA | | TB DISSEMI- NADA | NA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 51 | BRANCA | 28 | M | 208 | 2007 | NEG | NA | NEG | NA | | NEUROTOXO | NA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 52 | NEGRA | 29 | M | 12 | 2008 | NEG | NA | NEG | NA | | TB PULMONAR | NA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 53 | BRANCA | 42 | M | 575 | 2011 | NEG | NA | NEG | NA | | INSUFICIÊN- CIA RENAL | NA | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 54 | NEGRA | 38 | M | 5 | 2007 | NEG | NA | NEG | NA | | DIARREIA | CANDIDOSE ORAL | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |
| 55 | PARDA | 28 | M | 43 | 2012 | NEG | NA | NEG | NA | ANFO B | ESPORO DISSEMINA- DA | TB PULMONAR | ALTA | NA | ABAN- DONO | NÃO |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|--------|----|---|-----|------|-----|-----|-----|-----|-------------------------|----------------------|--------------------------|------|-----------|-----------|-----|
| 56 | NEGRA | 51 | M | 198 | 2007 | NEG | NA | NEG | NA | SEPSE PULMONAR | TB PULMONAR | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO | |
| 57 | PARDA | 19 | F | 26 | 1995 | NEG | NA | NEG | NA | TB PULMONAR | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO | |
| 58 | PARDA | 23 | M | 245 | 2013 | NEG | NA | NEG | NA | NEUROSSÍFILIS | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO | |
| 59 | PARDA | 39 | F | 56 | 1996 | NEG | NA | NEG | NA | TB DISSEMINADA | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO | |
| 60 | NEGRA | 36 | F | 49 | 2001 | NEG | NA | NEG | NEG | TB PULMONAR | NA | ALTA | NA | IRREGULAR | NÃO | |
| 61 | NEGRA | 34 | M | 44 | 2014 | NEG | NA | NEG | NA | NEUROTOXO PULMONAR | SEPSE PULMONAR | ALTA | NA | VT | NÃO | |
| 62 | PARDA | 30 | M | 16 | 2010 | NEG | NEG | NEG | NEG | TB DISSEMINADA | ENCEFALITE CMV | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO | |
| 63 | PARDA | 39 | M | 92 | 2014 | NEG | NA | NEG | NA | SK | NA | ALTA | NA | VT | NÃO | |
| 64 | PARDA | 38 | M | 44 | 2014 | NEG | NA | NEG | NA | SK | DIARREIA | ÓBITO INDEFINIDVT | NA | VT | ÓBITO | |
| 65 | PARDA | 24 | M | 97 | 2015 | NEG | NA | NEG | NEG | NEUROTOXO | TB MENÍNGEA | ALTA | NA | VT | NÃO | |
| 66 | BRANCA | 39 | M | 59 | 1995 | NEG | NA | NEG | NA | TB PLEURO-PULMONAR | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO | |
| 67 | PARDA | 34 | M | 8 | 2015 | NEG | NEG | NEG | NEG | SK | NA | ALTA | NA | VT | NÃO | |
| 68 | NEGRA | 38 | M | 177 | 2015 | NEG | NA | NEG | NA | INSUFICIÊNCIA RENAL | TB PULMONAR | ALTA | NA | VT | NÃO | |
| 69 | BRANCA | 28 | M | 62 | 2015 | NEG | NA | NEG | NA | PCP | NA | ÓBITO INSUF RESPIRATÓRIA | NA | VT | ÓBITO | |
| 70 | PARDA | 41 | M | 49 | 2015 | NEG | NA | NEG | NA | PCP | SK | ALTA | NA | VT | NÃO | |
| 71 | PARDA | 49 | F | 195 | 2006 | NEG | NA | NEG | NA | FEBRE DE ORIGEM OBSCURA | NA | ALTA | NA | IRREGULAR | NÃO | |
| 72 | BRANCA | 43 | M | 31 | 2010 | NEG | NA | NEG | NA | PCP | NA | ALTA | NA | IRREGULAR | NÃO | |
| 73 | BRANCA | 28 | F | 101 | 2007 | NEG | NA | NEG | NA | FLUCO | CANDIDOSE ESOFAGEANA | TB PULMONAR | ALTA | NA | IRREGULAR | NÃO |
| 74 | BRANCA | 47 | M | 64 | 2014 | NEG | NA | NEG | NA | SK | TB DISSEMINADA | ALTA | NA | VT | NÃO | |
| 75 | PARDA | 52 | M | 229 | 1993 | NEG | NA | NEG | NA | ESOFAGITE HERPÉTICA | NA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO | |
| 76 | PARDA | 38 | M | 7 | 2015 | NEG | NEG | NEG | NEG | ANFO B | ESPORO DISSEMINADA | NA | ALTA | NA | VT | NÃO |
| 77 | PARDA | 46 | M | NA | 2015 | NEG | NA | NEG | NA | TB DISSEMINADA | NA | ÓBITO TB DISSEMINADA | NA | VT | ÓBITO | |
| 78 | PARDA | 38 | M | 50 | 2005 | NEG | NA | NEG | NA | SK | IRIS | ALTA | NA | REGULAR | NÃO | |
| 79 | PARDA | 28 | M | 92 | 2011 | NEG | NA | NEG | NA | MIELODISPLASIA HIV | METEMOGLOBINEMIA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO | |
| 80 | PARDA | 49 | M | 132 | 2015 | NEG | NA | NEG | NA | ANFO B | ESPORO DISSEMINADA | NA | ALTA | NA | VT | NÃO |
| 81 | BRANCA | 47 | F | 24 | 2010 | NEG | NA | NEG | NA | PCP | SEPSE PULMONAR | ÓBITO SEPSE | NA | ABANDONO | ÓBITO | |
| 82 | PARDA | 35 | F | 146 | 2013 | NEG | NA | NEG | NA | HEPATITE MEDICAMENTOSA | TB PULMONAR | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO | |
| 83 | BRANCA | 42 | F | NA | 2003 | NEG | NA | NEG | NA | SEPSE PULMONAR | PCP | ÓBITO SEPSE | NA | VT | ÓBITO | |
| 84 | BRANCA | 52 | M | 46 | 2011 | NEG | NA | NEG | NEG | ANFO B/ITRA | ESPORO DISSEMINADA | IRA | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO |
| 85 | NEGRA | 25 | M | 88 | 2015 | NEG | NEG | NEG | NEG | PCP | SEPSE PULMONAR | ÓBITO PCP | NA | VT | ÓBITO | |
| 86 | PARDA | 53 | M | 3 | 2015 | NEG | NA | NEG | NA | PCP | SEPSE PULMONAR | ÓBITO SEPSE | NA | VT | ÓBITO | |
| 87 | PARDA | 28 | F | 241 | 2015 | NEG | NEG | NEG | NEG | NEUROTOXO | TB PULMONAR | ALTA | NA | ABANDONO | NÃO | |

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|-------|----|---|----|------|-----|-----|-----|-----|------------------------|-------------------|------|----|----|-----|
| 88 | NEGRA | 43 | M | 11 | 2015 | NEG | NEG | NEG | NEG | TB DISSEMI- NADA | SEPSE PULMONAR | ALTA | NA | VT | NÃO |
| 89 | PARDA | 25 | M | NA | 2015 | NEG | NA | NEG | NA | TB PLEURO- PULMONAR | NA | ALTA | NA | VT | NÃO |

**APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E
ESCLARECIDO (TCLE) DO PROJETO PRINCIPAL**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Prevalência de infecções fúngicas oportunistas em pacientes HIV positivos com
imunossupressão grave.**

**Termo de consentimento livre e esclarecido para pacientes HIV reagentes com
imunossupressão clínica e/ou laboratorial**

PESQUISADORA RESPONSÁVEL: Valdiléa Gonçalves Veloso dos Santos

TELEFONE: (21) 2270-7064.

INTRODUÇÃO:

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa por ser portador do vírus da imunodeficiência humana (HIV) e apresentar resultado de exame de CD4 abaixo de 200 células/mm³ que mostram deficiência no seu sistema imunológico, isto é seu sistema de defesa contra infecções.

Este documento é chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e contém informações sobre a pesquisa. Após ler este Termo e discutir suas dúvidas com a equipe responsável pelo estudo, você decidirá se quer ou não participar. Se quiser, você e um profissional de saúde da equipe do IPEC assinarão e datarão duas vias deste documento, uma delas ficará com você e outra arquivada com os pesquisadores.

É importante que você saiba que sua participação é totalmente voluntária. Você pode decidir participar ou não e sair a qualquer momento, sem que esta atitude influencie o seu direito de ser atendido no IPEC.

A equipe do estudo responderá a todas as suas dúvidas e explicará o estudo para você.

POR QUE ESTA PESQUISA ESTÁ SENDO FEITA?

A histoplasmose e a criptococose são infecções causadas por fungos que acometem o organismo humano e são capazes de causar doença em pessoas com a imunidade baixa, entre elas, os portadores de HIV com o CD4 baixo. Podem acometer os pulmões, o fígado, o baço, os rins e até o sistema nervoso central. Os sinais e sintomas podem estar presentes ou não, podem ser inespecíficos, como febre, tosse, falta de ar, náuseas, vômitos, cansaço, dor de cabeça.

As duas doenças, criptococose e histoplasmose, são adquiridas na comunidade, transmitidas pela respiração. Por exemplo, restos secos de fezes de aves e também de morcegos podem ter estes fungos, que se espalham no ar, sendo inalados pelos humanos. As pessoas com a imunidade boa têm em geral uma infecção leve e curam, sem precisar de internações ou remédios. Mas quando a imunidade está baixa, a infecção pode ser mais grave, disseminando para todos os órgãos do corpo, necessitando internação hospitalar para tratamento supervisionado. O início destas infecções geralmente é leve, e quanto mais cedo o diagnóstico, melhor é a resposta ao tratamento.

Os exames de laboratório que se usam de rotina para confirmar estas doenças são demorados, podendo precisar até 4 semanas para o resultado, no caso da histoplasmose. Por isso, se faz necessário o desenvolvimento de novas técnicas diagnósticas que sejam rápidas e específicas para cada uma das infecções, para começar logo o tratamento e evitar progressão da doença para formas graves.

QUAIS SÃO OS OBJETIVOS DESSA PESQUISA?

1 - Estimar a prevalência da criptococose e da histoplasmose nos pacientes HIV positivos com CD4 abaixo de 200 células/mm³ no nosso Instituto.

2 – Avaliar a eficácia de testes rápidos de laboratório para diagnosticar estas duas doenças: um método molecular para diagnóstico de histoplasmose no sangue e pesquisa de antígenos para diagnóstico da criptococose, no sangue e na urina.

3 – Avaliar as duas técnicas em pacientes com CD4 abaixo de 200 células/mm³, independente de ter ou não sintomas de doença.

O QUE EU DEVEREI FAZER SE DECIDIR PARTICIPAR DA PESQUISA?

Entrevista com os pesquisadores para saber se tem sinais e sintomas de infecção ou não. Pode ser necessário exame físico no momento da entrevista de acordo com as queixas relatadas por você.

Coleta de sangue periférico. Será necessário coletar aproximadamente 30 ml de sangue da veia do braço, que serão usados para os testes de diagnósticos descritos acima, e outros normalmente pedidos de rotina como hemograma, bioquímica e exame para fungos. Fornecer amostra de urina em pote estéril.

Revisaremos seu prontuário na busca de qualquer informação importante para nossa pesquisa.

Caso os resultados dos seus exames mostrem que você tem qualquer uma das infecções, histoplasmose ou criptococose, você será chamado, informado do resultado, e será prontamente encaminhado para tratamento de acordo com o protocolo padrão da nossa instituição.

POSSÍVEIS RISCOS

Tirar sangue pode causar desconforto, sangramento ou mancha roxa no local onde a agulha penetrou no corpo, além de tonteira e, em raros casos, desmaio ou infecção.

POSSÍVEIS BENEFÍCIOS

Caso você esteja com alguma das duas doenças em questão, você terá a oportunidade de ter um diagnóstico precoce, sendo encaminhado imediatamente para o tratamento padrão.

Você ajudará no desenvolvimento de exames rápidos e eficazes, evitando a demora do diagnóstico e promovendo o início precoce do tratamento, antes do desenvolvimento de formas graves das doenças.

CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS

Os dados do estudo referentes a você serão mantidos em confidencialidade dentro dos limites legais. Os resultados da pesquisa serão publicados, porém seu nome jamais aparecerá em qualquer publicação sobre o estudo.

A QUEM DEVO PROCURAR EM CASO DE DÚVIDAS?

Se você tiver alguma dúvida sobre sua participação nessa pesquisa ou sobre as informações contidas nesse termo de consentimento livre e esclarecido, favor entrar em contato com:

Valdiléa Gonçalves Veloso dos Santos

Laboratório de Pesquisa em DST e AIDS do IPEC/FIOCRUZ

Avenida Brasil, 4365 – Manguinhos – Rio de Janeiro

Tel: (021) 2270-7064

Se você tiver dúvidas sobre dar o seu consentimento ou sobre seus direitos como participante de pesquisa, favor entrar em contato com:

Comitê de Ética em Pesquisa do IPEC

Avenida Brasil, 4365 – Manguinhos – Rio de Janeiro

Tel: (021) 3865-9585

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO –TCLE

Prevalência de infecções fúngicas oportunistas em pacientes HIV positivos com imussupressão grave.

Fui devidamente orientado quanto a todos os procedimentos do estudo. Li (ou leram para mim) este termo de consentimento, tive chances de esclarecer minhas dúvidas e entendi todas

as informações. Concordo voluntariamente em participar deste estudo. Favor assinar seu nome abaixo e rubricar em todas as páginas deste termo de consentimento livre e esclarecido. Todas as páginas do termo também serão rubricadas pelo membro da equipe do estudo que realizou a discussão deste documento com você.

Nome do participante (por extenso)

Assinatura do participante

Data

Nome do representante legal do participante (por extenso)

Assinatura do representante legal

Data

Nome do membro da equipe do estudo que realizou a discussão do TCLE (por extenso)

Assinatura do membro da equipe do estudo

Data

Nome da testemunha (por extenso)

Assinatura da testemunha

Data