



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**CRIOCOCOCOSE EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA EM HIV-AIDS NO EXTREMO
SUL DO BRASIL**

Lurdeti Bastos da Silva

Rio Grande
Rio Grande do Sul - Brasil
2018



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**CRIOCOCOSE EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA EM HIV-AIDS NO EXTREMO
SUL DO BRASIL**

Lurdeti Bastos da Silva

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde, sob orientação da **Prof^a. Dr^a Melissa Orzechowski Xavier.**

Rio Grande
Rio Grande do Sul - Brasil
2018

Lurdeti Bastos da Silva

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde sob orientação da **Prof.^a Dr.^a Melissa Orzechowski Xavier.**

**CRIOCOCOSE EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA EM HIV-AIDS NO EXTREMO
SUL DO BRASIL**

Banca Examinadora:

Prof.^a. Dr.^a. Carla Vitola Gonçalves – FURG

Prof.^a. Dr.^a. Ivy Bastos Ramis de Souza– FURG

Prof.^a. Dr.^a Patricia da Silva Nascente– UFPel

Prof.^a. Dr.^a. Andrea von Groll (suplente) – FURG

Prof.^a. Dr.^a. Melissa Orzechowski Xavier – FURG (Prof.^a Orientadora)

Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu filho Victor Matheus, pela convivência que me estimula a buscar, a cada dia, ser uma pessoa, cada vez, melhor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade diária de construir uma vida melhor.

À minha família pelo apoio e incentivo que me fortalecem.

A equipe técnica da Unidade de Terapia Intensiva Adulto do HU-FURG pela contribuição valiosa como colegas e profissionais no percurso deste estudo.

Aos profissionais da equipe técnica dos Laboratórios- FAMED – FURG que me acolheram e oportunizaram o desenvolvimento deste trabalho.

Ao corpo docente da Escola de Medicina – FAMED - FURG, por instigar-me à busca do conhecimento e da transformação.

A minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Melissa Xavier pelo incentivo em todos os passos desta trajetória.

A todos os meus amigos que compartilham comigo mais esta conquista.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO	01
ABSTRACT	03
LISTA DE TABELAS	05
LISTA DE FIGURAS	06
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	07
1 INTRODUÇÃO	09
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Definição e Histórico da Criptococose.....	10
2.2 Etiologia e Ecologia.....	10
2.3 Fatores de Patogenicidade do <i>Cryptococcus</i> spp.	12
2.4 Epidemiologia Relacionada a Coinfecção Criptococose e HIV-AIDS	14
2.5 Apresentações Clínicas.....	16
2.6 Diagnóstico da Criptococose.....	18
2.7 Tratamento da Criptococose.....	21
2.8 Coinfecção com Criptococose e HIV/AIDS.....	23
2.9 Coinfecção com Criptococose e Tuberculose em Pacientes HIV/AIDS.....	25
3 OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo Geral.....	28
3.2 Objetivos Específicos	28
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
5 ARTIGOS	38
5.1 Artigo 01- Cryptococcosis and Tuberculosis Co-infection in HIV-AIDS patients from Southern Brazil.....	38
5.2 Artigo 02 – Criptococose em Pacientes HIV-AIDS no Extremo Sul do Brasil.....	49
6 CONCLUSÕES	62
7 APÊNDICE A: Formulário Padrão de Coleta de Dados.....	63
8 APÊNDICE B: Termo de Consentimento Livre Esclarecido.....	65
9 APÊNDICE C: Termo de Aprovação do CEPAS.....	67

RESUMO

SILVA, Lurdete Bastos da. **Criptococose em um Centro de Referência em HIV-AIDS no Extremo Sul do Brasil**. 2018, 77p. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande. Rio Grande do Sul. Brasil Orientadora: Profa. Dra. Melissa Orzechowski Xavier.

Introdução: A incidência global dos casos de meningite criptocócica abrange 223.100 pessoas/ano, com a estimativa de 6% dos pacientes com contagem de $TCD4^+ < 100$ células/mm³ apresentando antigenemia criptocócica (CrAg). Na América Latina, o Brasil e a Colômbia se destacam pelo maior número de casos notificados (1001-2.500 casos). Considerando a gravidade da Criptococose (Cr) para tais pacientes e a alta prevalência do HIV-AIDS no Rio Grande do Sul, onde o município do Rio Grande se destaca como primeiro colocado no ranking nacional em taxas de detecção do HIV-AIDS, este estudo teve como objetivo traçar o perfil clínico, epidemiológico da criptococose em pacientes HIV/AIDS atendidos no Serviço de Referência Regional do Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio Grande (SAE-HU-FURG). **Material e Métodos:** Trata-se de estudo retrospectivo que abrange todos os casos de Cr diagnosticados no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2016. Foram considerados casos de Cr os pacientes com titulação acima de 1:8 em soro ou líquido (LCR) no teste de aglutinação do látex para detecção de antígeno criptocócico e/ou aqueles com isolamento de *Cryptococcus* sp. em cultivo micológico de amostras clínicas como: líquido cefalorraquidiano (LCR), lavado broncoalveolar (LBA), líquido pleural (LP) e/ou hemocultura. Ainda foram investigados, neste estudo, os casos de coinfeção com Cr e Tuberculose (TB) nestes pacientes, cujo diagnóstico da TB foi comprovado por microscopia com Ziehl Neelsen e / ou cultura líquida em BACTECTM MGITM 320 com confirmação de *M. tuberculosis* por PCR-IS-6110. **Resultados:** O estudo evidenciou 70 casos de Cr, cujo *C. neoformans* foi o agente etiológico da totalidade dos casos em que o cultivo foi (n=44). A maioria dos pacientes era do sexo masculino (74,3%) e a idade média foi de 39,9 anos (20 - 78) (DP=11,4). Neurocriptococose foi a principal apresentação clínica, abrangendo 84,3% dos casos. A presença de comorbidades associadas a coinfeção Cr/HIV-AIDS foi evidenciada em 43% (n=30/70) dos , . A Cr foi condição definidora da AIDS em 40% (n=28/70) dos pacientes e a taxa média de TCD4 foi de 73 cel/mm³ (2-447 cel/mm³) (DP=98,8) com detecção da carga viral ≥ 50.000 cópias/mm³ em cerca de 75% dos pacientes. A mortalidade foi de 52,9% (37/70) e, para estes pacientes cuja doença foi fatal, a expectativa de vida foi em média de 81,8 dias (2-930) (DP=168,7), a partir do primodiagnóstico da doença. A detecção de CrAg ocorreu em 92,5% (n=62/67) dos pacientes avaliados, com mais de 65% destes apresentando título $\geq 1:1024$. O cultivo micológico apresentou 100% (44/44) de positividade. Ainda neste estudo, casos da coinfeção Cr/TB/HIV-AIDS foram investigados, considerando o período de 3 anos, a contar de Janeiro de 2010 a Dezembro de 2012. Nesse período, 10 casos da tripla coinfeção foram descritos, cuja idade média dos pacientes foi de 39,3 anos(28-56) (DP= 9.5), sendo que, 80% dos casos foram do sexo masculino. Neurocriptococose e TB pulmonar ocorreram em 40% dos casos e a associação de Cr pulmonar e TB pulmonar em 30%. Os outros casos foram: TB pulmonar e TB ganglionar (n = 01), meningite por Cr e TB ganglionar (n = 01) e meningite criptocócica e tuberculosa (n = 01). A média da taxa de TCD4 + foi de 118,6 cel / mm³ (DP = 135,36) com 80% dos pacientes mantendo TCD4 + < 100 células / mm³. A carga viral apresentada por 70% dos pacientes foi igual ou superior a 100.000 cópias / mm³. Quatro pacientes (40%) morreram em média 29 dias (DP = 8,75) após o diagnóstico de coinfeção Cr/TB/HIV-AIDS. **Conclusão:** O estudo relatou uma série de casos de Cr nos usuários do SAE-HU-FURG, evidenciando a alta prevalência e letalidade, revelando ainda a ocorrência de casos da tripla coinfeção Cr/TB/HIV-AIDS como um fator de pior prognóstico clínico, evidenciando a grave condição de imunossupressão dos pacientes coinfectados. Portanto, se

torna urgente a ampliação dos investimentos em prevenção e otimização do diagnóstico tanto para o HIV-AIDS quanto para Cr e TB.

Palavras Chave: Coinfecção, Epidemiologia, *Cryptococcus neoformans*, Infecções Oportunistas Relacionadas com a AIDS.

ABSTRACT

SILVA, Lurdeti Bastos da. **Cryptococcosis in a Reference Center on HIV-AIDS in the Extreme South of Brazil**. 2018, 77p. PhD Thesis - Post-Graduation Program in Health Sciences. Federal University of Rio Grande. Rio Grande. Rio Grande do Sul. Brazil. Advisor: Dr. Melissa Orzechowski Xavier

Introduction: The overall incidence of cryptococcal meningitis is 223,100 person-years, with an estimated 6% of the patients with CD4 count $\ll 100$ cells / mm^3 presenting cryptococcal antigenemia (CrAg). Latin America, Brazil and Colombia stand out for the highest number of reported cases (1001-2,500 cases). Knowing the severity of the infection for such patients and the high prevalence of HIV-AIDS in Rio Grande do Sul, where the city of Rio Grande ranks first in the national ranking of HIV-AIDS detection rates, this study aimed to trace the clinical, epidemiological and laboratory profile of cryptococcosis in HIV / AIDS patients attended at the Regional Reference Service of the University Hospital of the Federal University of Rio Grande (SAE-HU-FURG) **Methods:** It is a retrospective study that covered all cases diagnosed in the period from January 2010 to December 2016. Patients with titers above 1: 8 in serum or CSF in the latex agglutination test for the detection of cryptococcal antigen and / or patients with *Cryptococcus* sp. (CSF), bronchoalveolar lavage (BAL), pleural fluid (LP) and / or hemoculture were considered as cases of Cr. In this study, we investigated the cases of co-infection with Cr and Tuberculosis (TB) in these patients, whose TB diagnosis was confirmed by microscopy with Ziehl Neelsen and / or liquid culture in BACTECTM MGITM 320 with confirmation of *M. tuberculosis* by PCR- IS-6110. **Results:** The study evidenced 70 cases of Cr, whose *C. neoformans* was the etiological agent of all the cases in which the mycological culture was performed (n = 44). The majority of the patients were male (74.3%) and the mean age was 39.9 years (20-78) (SD = 11.4). Neurocryptococcosis was the main clinical presentation, covering 84.3% (n = 59/70) of the cases. The presence of comorbidities associated with Cr / HIV-AIDS coinfection was evidenced in 43% (n = 30/70) of the patients, with a predominance of tuberculosis (n = 11). Cr was the AIDS-defining condition in 40% (n = 28/70) of the patients and the mean rate of TCD4 was 73 cel / mm^3 (SD = 98.8) with load detection viral load $\geq 50,000$ copies / mm^3 in about 75% of patients. Mortality was 52.9% (37/70) and, for these patients with the fatal disease, the time of evolution to death was 81.8 days (2-930) (SD = 168.7), after the first diagnosis of the disease. The detection of CrAg occurred in 92.5% (n = 62/67) of the evaluated patients, with more than 65% of them presenting titre $\geq 1: 1024$. Mycological culture showed 100% (44/44) of positivity. Also in this study, cases of co-infection Cr / TB / HIV-AIDS were investigated, in a period of 3 years, from January 2010 to December 2012. In this period, 10 cases of triple coinfection were described with a mean age of 39.3 years (28-56) (SD = 9.5) and 80% of the cases were male. In the study neurocryptococcosis and pulmonary TB occurred in 40% of cases and the association of pulmonary Cr and pulmonary TB in 30%. The other cases were pulmonary TB and lymph node TB (n = 01), cryptococcal meningitis and lymph node TB (n = 01) and cryptococcal and tuberculous meningitis (n = 01). In these cases the mean TCD4 + rate was 118.6 cel / mm^3 (SD = 135.36) with 80% of patients with TCD4 + < 100 cells / mm^3 and 70% of patients had a viral load $> 100,000$ copies / mm^3 . Four patients (40%) died on average 29 days (SD = 8.75) after diagnosis of co-infection with Cr / TB / HIV-AIDS. **Conclusion:** The study reported a number of Cr cases in SAE-HU-FURG patients, evidencing the high prevalence and lethality, also revealing the occurrence of cases of triple Cr / TB / HIV-AIDS co-infection as a factor of worse clinical prognosis, evidencing the serious condition of immunosuppression of coinfecting patients. Therefore, it is urgent to increase investments in prevention and optimization of diagnosis for both HIV-AIDS and Cr and TB.

Key words: Co-infection, Epidemiology, *Cryptococcus neoformans*, HIV- AIDS Opportunistic infection

LISTA DE TABELAS

Artigo 01

Tabela 1: Clinical-epidemiological and laboratory data of patients (n = 10) diagnosed with cryptococcosis and tuberculosis co-infection at a Regional Reference Service of HIV / AIDS from Southern Brazil over a period of three years.....48

Artigo 02

Tabela 1. Dados clínico-epidemiológicos e laboratoriais de pacientes HIV-AIDS com criptococose (n=70) do HU-FURG, RS, Brasil, no período de 2010 a 2016.....59

LISTA DE FIGURAS

Artigo 02

- Figura 01.** Distribuição anual dos 70 dos casos da coinfeção Cr/HIV-AIDS diagnosticados no HU-FURG, RS, Brasil, de Janeiro de 2010 a Dezembro de 2016.....60
- Figura 02:** Organograma demonstrando os métodos laboratoriais de confirmação diagnóstica da Cr em pacientes HIV-AIDS no HU-FURG durante o período de 2010 a 2016.....61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS - Acquired Immunodeficiency Syndrom

AFLP - *Amplified Fragment Length Polymorfism*

BHI - Remel Brain Heart Infusion

CIM - Concentração Inibitória Mínima

C. gattii - *Cryptococcus gattii*

C. neoformans - *Cryptococcus neoformans*

CFM - Concentração Fungicida Mínima

CGB - *L-Canavanine, Glycine, 2 Bromothymol blue*

CM - *Criptococcal Meningitis*

Cr- Criptococose

CrAg - *Cryptococcal Antigen*

DNA - *Deoxyribonucleic acid*

E. tereticornis - *Eucalyptus tereticornis*

F. bacillispora - *Filobasidiella bacillispora*

F. neoformans - *Filobasidiella neoformans*

FAMED - Faculdade de Medicina

FURG - Universidade Federal do Rio Grande

GalXM – Galatoxilomanana

GXM – Glucuroxilomana

HE - Hematoxilina – eosina

HIV - *Human Immunodeficiency Virus*

HU - Hospital Universitário

IFN- γ - Interferon - γ

IRIS – *Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome*

KCl - Cloreto de Potássio

LBA - Lavado Bronco Alveolar

LCR - Líquido Cefalorraquidiano

LP- Líquido Pleural

LTB - *Lymph node TB*

MIC- *Minimum Inhibitory Concentration*

MLST – *Multilocus Sequence Typing*

MP = Manoproteínas

PC - Pulmonary Cryptococcosis

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

PDA - *Potato Dextrose Agar*

PIC – Pressão Intracraniana

PL- Punção Lombar

PTB - *Pulmonary Tuberculosis*

RAPD - *Random Amplified Polymorphic DNA*

RNA - *Ribonucleic acid*

RFLP - *Restriction Fragment Length Polymorphism*

RPMI - *Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640*

SAE – Serviço de Atenção Especializada

SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNC - Sistema Nervoso Central

TARV - Terapia Antirretroviral

TB - Tuberculose

TBM - *Tuberculous Meningitis*

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral - α

1 INTRODUÇÃO

A Criptococose (Cr) é uma micose sistêmica que acomete de 6% a 10% dos pacientes que desenvolvem a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (RAJASINGHAM et al, 2017; WILLIAMSON, 2017). A estimativa global de incidência da Cr em pessoas vivendo com HIV-AIDS, em 2014, foi de 223.000 novos casos, resultando em uma mortalidade de 181.000 pessoas, representando 15% das mortes relacionadas a AIDS (RAJASINGHAM et al, 2017; WHO, 2018)

O desenvolvimento da doença depende de fatores do hospedeiro (leucopenia), níveis de exposição ambiental ao patógeno e fatores de virulência da cepa infectante, principalmente a termotolerância, a produção de pigmento melanínico e a presença da cápsula (YAMAMURA et al., 2013; GIBSON & JOHNSTON, 2014; THOMPSON III et al., 2014; BRUNI et al., 2017). A principal manifestação clínica da criptococose e a mais letal é a meningoencefalite, prevalecendo em 70% a 90% dos casos, sendo o principal agente causal dentro do complexo de espécies *Cryptococcus neoformans*, o *C. neoformans var. grubii*, responsável por 95% dos casos da coinfeção Cr/HIV-AIDS (DESJARDINS, 2017; RODHES et al., 2017).

Considerando que o Município do Rio Grande aparece em primeiro lugar no *ranking* nacional de detecção do HIV-AIDS, se torna relevante o estudo epidemiológico da Cr no serviço de referência regional (SAE-HU-FURG) para uma melhor compreensão e abordagem dos casos, visto que esta é uma das principais doenças oportunistas de desfecho fatal para os pacientes com AIDS (BRASIL, 2018).

O estudo deu origem a dois artigos: o primeiro intitulado **Cryptococcosis and Tuberculosis Co-infection in a Regional Reference Service of HIV-AIDS from Southern Brazil**, o qual teve como objetivo descrever a ocorrência de todos os casos de coinfeção Cr / TB em pacientes atendidos no Serviço de Referência Regional de HIV-AIDS de um hospital do sul do Brasil em um período de três anos e, o segundo, intitulado **Criptococose em Pacientes HIV-AIDS no Sul do Brasil**, cujo objetivo foi avaliar a ocorrência da Cr, etiologia e perfil clínico - epidemiológico no serviço de referência SAE-HU-FURG no Sul do Brasil, durante um período de sete anos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Definição e Histórico da Criptococose

A criptococose é uma doença infecciosa causada por fungos do gênero *Cryptococcus* que acomete, principalmente, pacientes imunodeprimidos com doenças de base como diabetes, neoplasias malignas, transplantados de órgãos sólidos, transplantados de medula óssea e, predominantemente, pacientes com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (DESNOS-OLLIVIER et al., 2015). A doença atinge primariamente os pulmões, podendo se manifestar na pele, ossos e gânglios linfáticos, no entanto, o fungo apresenta tropismo pelo sistema nervoso central (SNC), de modo que a meningoencefalite prevalece como a principal apresentação clínica (GBANGBA-NGAI et al., 2014; ARMSTRONG-JAMES, MEINTJES & BROWN, 2014; EL FANE et al., 2015).

A levedura encapsulada *Cryptococcus neoformans* foi isolada pela primeira vez em suco de frutas por Sanfelice na Itália em 1895, sendo denominada *Saccharomyces neoformans*. Neste mesmo ano, na Alemanha, Busse e Buschke descreviam o primeiro caso de criptococose em uma mulher de 31 anos com lesão óssea, cujo blastomiceto identificado em cultivo recebeu a denominação de *Saccharomyces hominis*. Em 1905, o primeiro caso de meningite criptocócica foi descrito por Von Hansemann. E, na década de 1970, Baker e Haugen apresentaram dados de patologia e descreveram a rota da infecção primária pulmonar da criptococose com a hipótese da possível aerosolização dos propágulos fúngicos infectantes ambientais atingindo a árvore brônquica (MITCHELL & PERFECT, 1995; CASADEVALL & PERFECT, 1998; SRIKANTA, SANTIAGO-TIRADO & DOERING, 2014).

Durante vários anos, permaneceram as controvérsias sobre a denominação do agente etiológico da criptococose, sendo que o mesmo recebeu como denominações *Saccharomyces neoformans*, *Blastomyces neoformans*, *Cryptococcus hominis* e *Torula histolytica*. Da mesma forma, a infecção recebeu diversas nomenclaturas, incluindo como sinônimos da criptococose: torulose, blastomicose européia, blastomicose de focos múltiplos ou blastomicose de Busse-Buschke, *Torula Meningitis* e *Torula Infection*. A denominação *Cryptococcus neoformans* proposta por Benham, em 1950, considerava uma única espécie com três sorotipos distintos (A, B e C), sendo que a descrição do sorotipo D se deu 20 anos mais tarde (MITCHELL & PERFECT, 1995; DEL POETA & CASADEVAL, 2012, CHEN, MEYER & SORREL, 2014).

2.2 Etiologia e Ecologia

Cryptococcus spp. são basidiomicetos com mais de 30 espécies distribuídas de forma onipresentes no ambiente, dentre as quais duas apresentam relevância clínica à saúde humana

C. neoformans e *C. gattii* (DEL POETA & CASADEVAL, 2012; CHEN, MEYER & SORREL, 2014 MAZIARZ & PERFECT, 2016). A espécie *C. neoformans* se divide em duas variedades *C. neoformans* var. *neoformans* (sorotipo D) e *C. neoformans* var. *grubii* (sorotipo A) apresentando ainda o sorotipo AD híbrido (intervariedades). A espécie *C. gattii* apresenta dois sorotipos, os quais se distinguem como sorotipo B e sorotipo C. Essas duas espécies se subdividem por tipos moleculares distintos: *C. neoformans* var. *grubii* (VNI, VNII e VNB), *C. neoformans* var. *neoformans* (VNIV), sorotipo AD híbrido intervariedades (VNIII) e *C. gattii* (VGI, VGII, VGIII e VGIV) (SRIKANTA, SANTIAGO-TIRADO & DOERING, 2014; RHODES et al., 2017, HAGEN, 2015; HAGEN et al, 2017).

Estudos mais recentes propõem nova classificação para *Cryptococcus neoformans*, sugerindo a distinção das espécies entre o Sorotipo A (*C. neoformans* var. *grubii*) e Sorotipo D (*C. neoformans* var. *neoformans*) e, ainda a classificação do sorotipo AD híbrido como interespécies. Esta nova classificação é sugerida por meio de evidências de estudos filogenéticos desenvolvidos em centros de referência em micologia de países da Europa, Ásia e América do Norte, no entanto, ainda não está vigente (BOVERS, HAGEN & BOEKHOUT, 2008; DESNOS-OLLIVIER et al., 2015; HAGEN et al., 2015; RHODES et al., 2017).

C. neoformans é encontrado prioritariamente no solo e excretas de pássaros (principalmente pombos) e se distribui de forma cosmopolita (MACHADO; AMARAL & SEVERO, 1993; FILIÚ et al., 2002; MEZZARI et al., 2014; BRITO SANTOS et al., 2015). No que diz respeito a *C. gattii*, os isolados são obtidos dos ocos de árvores e madeira em decomposição, primeiramente apontando as espécies de eucaliptos (*Eucalyptus camaldulensis* e *E. tereticornis*) de regiões de clima tropical e temperado como principal reservatório e, mais recentemente, sendo observados em outras árvores nativas brasileiras como cássia, oiti, ficus e mulungu nas regiões norte e nordeste da Amazônia (BRASIL, 2012; WARPEHA, PARK & WILLIAMSON, 2013; YAMAMURA et al., 2013; BRITO SANTOS et al., 2015).

Cryptococcus spp. pode ser identificado por um grupo de características fisiológicas e bioquímicas a considerar: não fermentam açúcares, e sim, o assimilam por metabolismo oxidativo; utilizam como fonte de carbono a glicose, maltose, sacarose, galactose, trealose, melizitose, D-xilose, L-raminose, sorbitol, manitol, dulcitol, D-manitol, α -metil-d-glucosídeo, salicina, inositol, além da frutose; tem capacidade de hidrolisar uréia, aumentando o pH do meio e não sofrem redução por nitrito; crescem bem em temperaturas entre 25°C a 37°C, apresentando termotolerância máxima de 40°C. Possui uma cápsula mucopolissacarídea que lhe confere antigenicidade e constitui o principal fator de virulência do fungo, atuando na resistência a fagocitose mediada por macrófagos, neutrófilos e monócitos, e ainda, conferindo

proteção contra raios ultra violeta (MITCHELL & PERFECT, 1995; CASADEVALL & PERFECT, 1998; ALSPAUG, 2015). Assim, para transpor as condições fisiológicas do hospedeiro o fungo dispõe das habilidades de sobrevivência a 37°C, resistência a uma concentração de CO₂ de aproximadamente 5% e adaptação a valores de pH entre 7,3 e 7,4 (CASADEVALL & PERFECT, 1998; SIDRIM & ROCHA, 2012).

No seu ciclo de vida apresentam reprodução assexuada (predominantemente) e sexuada. Na forma assexuada ou anamórfica (*C. neoformans* e *C. gattii*) a reprodução celular se dá por brotamento único ou bipolar a partir da parede celular. O fungo apresenta forma leveduriforme, cuja morfologia observada mediante o cultivo em agar Sabouraud se caracteriza por blastoconídios esféricos a ovalados, encapsulados, variando de 3 a 8 µm; a cor da colônia pode ser branca ou creme, de textura mucóide e aspecto brilhante com bordas regulares e lisas, não havendo formação de micélio ou pseudohifas (KOSUBOWSKI & HEITMANN, 2012).

No ciclo sexuado ou teleomórfico *C. neoformans* e *C. gattii* correspondem respectivamente à *Filobasidiella neoformans* e *F. bacillispora*. Neste tipo de reprodução ocorre a conjugação de duas células haplóides de sexualidades distintas, denominadas *mating type* α (mais frequente na natureza) e *mating type* **a**, as quais, produzidas *in vitro*, no laboratório, apresentam formação de micélio e basidiospóros. Os basidiospóros produzidos no ciclo sexuado diferem morfologicamente, apresentando forma esférica, alongada ou cilíndrica com a parede ligeiramente rugosa para *F. neoformans*, enquanto que *F. bacillispora* tem formato baciliforme e parede lisa (KOSUBOWSKI & HEITMANN, 2012; SIDRIM & ROCHA, 2012; CHEN, MEYER & SORREL, 2014).

2.3 Fatores de Patogenicidade do *Cryptococcus* spp.

No que tange a patogenicidade do fungo, *C. neoformans* e *C. gattii* expressam fatores de virulência que determinam o seu potencial patogênico no desenvolvimento da infecção em humanos relacionada a sua habilidade de evasão ao sistema imune, tais como presença da cápsula mucopolissacarídica, produção de melanina, produção de urease e termotolerância, entre outros (HENAOMARTINEZ & BECKHAM, 2015; BRUNI et al., 2017). A capacidade de produzir cápsula tem sido o fator de virulência mais bem explorado na literatura científica. Esta estrutura dinâmica que pode crescer em dimensão, aumentando várias vezes o diâmetro da célula fúngica em espessura, é composta principalmente por dois polissacarídeos, a glucuroxilomanana e a glucuroxilomanagalactana. Ambos os polissacarídeos estão envolvidos na virulência com propriedades protetoras contra o estresse oxidativo, permitindo que a levedura sobreviva dentro da célula hospedeira. Em adição, a cápsula

mucopolissacarídica tem a capacidade de promover a inibição da fagocitose, a depleção do sistema complemento e a inibição da migração de leucócitos com consequente redução da resposta imune humoral, mediada por anticorpos. É importante destacar que estirpes que não apresentam a cápsula são avirulentas (GARCÍA-RODAS et al., 2014; SRIKANTA, SANTIAGO-TIRADO & DOERING, 2014; DENHAM et al., 2018).

Outro fator essencial que garante a sobrevivência desta levedura no organismo humano é a sua habilidade de sobreviver e se desenvolver a 37°C, a qual está associada a produção do D-manitol, um poliol produzido pela levedura a partir de carboidratos. A produção do manitol é diretamente proporcional a carga fúngica no sítio da infecção. Este álcool confere ao patógeno resistência ao calor e as variações da pressão osmótica, minimizando o estresse oxidativo e intensificando o potencial patogênico do fungo (GEUNES-BOYER et al., 2012; SRIKANTA, SANTIAGO-TIRADO & DOERING, 2014).

Da mesma forma, a habilidade do fungo em produzir melanina constitui um importante fator de patogenicidade por conferir, ao patógeno, resistência aos danos oxidativos (BRILHANTE et al., 2017). A mielinização da levedura é catalisada pela lacase, uma difeniloxidase presente na parede celular. Para *C. neoformans*, os genes LAC1 E LAC2 são conhecidos como codificadores da lacase, sendo LAC1 o principal envolvido na produção de melanina. Outros metabólitos da levedura contribuem como fatores de virulência, dentre os quais a superóxido dismutase, proteases, fosfolipases e urease, sendo que a urease é uma enzima catalítica importante para hidrólise da uréia, além de favorecer a disseminação do patógeno do sítio pulmonar para o SNC pela sua capacidade de aumentar o sequestro intravascular da célula fúngica, facilitando a sua transposição a barreira hematoencefálica. No entanto, este mecanismo ainda permanece desconhecido, havendo suposições sobre a ureia aumentar a adesão da célula fúngica ao endotélio e/ou a amônia, potencialmente, causar lesões teciduais, rompendo a integridade da barreira hematoencefálica (OLSZEWSKI et al., 2004; RUTHERFORD, 2014; GARCÍA-RODAS et al., 2015; THAMMASITA et al., 2018).

C. neoformans e *C. gattii* apresentam características de virulência e prognóstico clínico divergentes de acordo com seus sorotipos, genótipos, ploidia e *mating type* (LIN et al., 2009; GUPTA & FRIES, 2010; DESNOS-OLLIVIER et al., 2015). Dentro do Complexo *C. neoformans*, *C. neoformans* var. *grubii* (VNI, VNII e VNB) é considerado mais prevalente e com potencial patogênico superior aos demais sorotipos, enquanto que na espécie *C. gattii* as infecções em pacientes sem disfunção imunitária aparente e nos pacientes com HIV/AIDS ocorrem, mais comumente, pelos tipos VGII e VGIII, respectivamente (TRILLES et al., 2008; GEUNES-BOYER et al., 2012; SPRINGER et al., 2014; DESJARDINS et al., 2017).

No processo infeccioso as células diplóides são consideradas atípicas ou raras, limitadas pelas condições fisiológicas do hospedeiro como alta temperatura, umidade e níveis elevados de CO₂, enquanto que as células haplóides são mais habilitadas para evadir o sistema imunológico e garantir a progressão da infecção (FERETZAKI et al., 2014; ROACH & HEITMAN, 2014). O impacto do tipo de acasalamento (*mating type*) na virulência criptocócica parece estar relacionado a síntese de proteínas e ao perfil de expressão gênica de acordo com a fisiologia e morfologia celular, dependente de cada estirpe (ZHAI et al., 2013; GIAWALI et al., 2017). Sob esta perspectiva, Roach & Heitman (2014) destacam a relevância da reprodução unissexuada dando origem a cepas mais virulentas de *Cryptococcus* spp., devido a sua habilidade de purgar o genoma de mutações deletérias para produzir descendência com maior aptidão (seleção natural) e virulência, apresentando maior diversidade genética e, conseqüentemente, promovendo fenótipos distintos, produzindo estirpes mais virulentas, as quais se dispersam no ambiente por expansão clonal (ROACH & HEITMAN, 2014).

Chen et al. (2017) investigou a microevolução do patógeno a partir das cepas de isolados incidentes e recidivantes, mostrando a plasticidade genética do microrganismo mediante a pressão da quimioterapia antifúngica e da resposta imune dentro do hospedeiro, no sítio neurológico (LCR). Este estudo evidenciou a habilidade de adaptação do fungo ao estresse por meio das mutações genéticas e fenotípicas observadas nas cepas recidivantes, capazes de intensificar a virulência como a garantia da replicação fúngica a temperaturas de 39°, adaptação ao estresse oxidativo com maior produção de melanina e de cápsula, bem como, a habilidade de amplificação do gene ERG11 para fornecer uma resistência estável ao fluconazol, dando origem a cepas mais letais (CHEN et al., 2017).

2.4 Epidemiologia Relacionada a Coinfecção Criptococose e HIV-AIDS

Segundo Rajasingham et al. (2017) a incidência anual global da Cr na era pré TARV era estimada em 957.900 casos ano, até 2008, com um alto nível de incertezas a respeito das estimativas. Portanto, este mesmo autor, considerou em seu relatório de evidências os resultados da época mais recente de ampla expansão da TARV, na qual se observou a redução significativa das mortes relacionadas a AIDS em 45% (de 2 milhões para 1,1 milhão) em todo o mundo e ainda adicionou ao seu estudo a relevância da investigação da antigenemia criptocócica (CrAg) para a atualização da estimativa global da coinfecção Cr/HIV-AIDS (UNAIDS, 2014; RAJASINGHAM et al, 2017). Neste ínterim, a estimativa global atualizada de prevalência de criptococose encontra-se em 6% para pacientes com contagem de TCD4⁺ < 100 células/mm³, contabilizando 278.000 pessoas CrAg positivas em âmbito mundial, até 2014,

sendo a meningite criptocócica responsável por 15% das mortes relacionadas a AIDS (RAJASINGHAM et al, 2017; WILLIAMSON, 2017).

Neste contexto, a incidência global dos casos de meningite criptocócica abrange 223.100 pessoas/ano, sendo que a África subsaariana detém 73% dos casos, seguida pelas regiões da Ásia e do Pacífico, as quais reúnem 19% do total de casos, com uma incidência de 43.200 casos/ano. O número de óbitos por meningite criptocócica soma, anualmente, 181.100 casos (RAJASINGHAM et al, 2017; WHO, 2018).

Quanto a prevalência das espécies dentro do complexo *C. neoformans* como agente etiológico da Cr, *C. neoformans var. grubii* é responsável por 95% dos casos, sendo considerada a espécie mais virulenta e mais patogênica em humanos, o que coincide com o fato das linhagens VNI e VNII serem altamente clonais e se distribuírem amplamente em nível global, do mesmo modo, a linhagem VNB, antes restrita a África Subsaariana, ocorre naturalmente no ambiente sulamericano (DESJARDINS, 2017; RODHES et al., 2017).

A terceira região com a maior incidência de casos da coinfeção Cr/HIV-AIDS no mundo é a América Latina, onde o Brasil e a Colômbia se destacam pelo maior número de casos notificados (1001-2.500 casos), seguidos pela Argentina e México (501-1000 casos). Nesses países, a letalidade da doença nos pacientes coinfectados com HIV-AIDS é alta, variando entre 13 % e 73% (NOGUERA, ESCANDÓN & CASTAÑEDA, 2015; FERREIRA-PAIM et al., 2017; FIRACATIVE et al., 2018). No Brasil, a principal manifestação clínica da doença é a neurocriptococose e a letalidade apresenta ampla variação segundo registros de estudos regionais dos Serviços de Assistência Especializada distribuídos pelo país, reunidos na metanálise de Firacative et al. (2018), cujos percentuais oscilam entre 12% e 77% (DANZÉ et al., 2000; MOREIRA et al., 2006; HASIMOTO E SOUZA et al., 2013; AGUIAR et al., 2017; FIRACATIVE et al., 2018). Nas regiões Sul e Sudeste do Brasil predomina a criptococose associada à AIDS, causada pelo *C. neoformans*. Por outro lado, a infecção causada por *C. gattii*, as quais acometem indivíduos imunocompetentes são de caráter endêmico e prevalecem nas regiões norte e nordeste do país (TRILLES, 2008; CHEN, MEYER & SORREL, 2014; BRITO-SANTOS et al., 2015).

Sobre a prevalência genotípica das espécies de *Cryptococcus* no território brasileiro, Trilles et al. (2008), reuniu 443 isolados (clínicos e ambientais) *C. neoformans* e *C. gattii* provenientes de 11 estados brasileiros, mostrando predominância de *C. neoformans var. grubii* (VNI 64%) sobre VNII (5%), VNIV (3%) e VNIII (<1%). Para *C. gattii* predominou o tipo VGII (21%) sobre VGIII (4%) e VGI (3%) (TRILLES, 2008).

No contexto regional, em estudo desenvolvido pelo Laboratório Central de Saúde Pública (IPB-LACEN/RS) no período de 2000 a 2005, descreveu que a neurocriptococose no Rio Grande do Sul, ocorre predominantemente em homens, caucasianos com idade entre 30 e 39 anos, sendo 95% dos casos da doença associados ao HIV/AIDS. *C. neoformans var. grubii* prevaleceu em 95,4% dos casos, enquanto *C. gattii* ocorreu menos frequentemente, representando 4,58% dos casos (LEAL et al., 2008).

Na região Oeste do país (Uberlândia-MG), estudo de Aguiar et al., (2017) demonstrou que a CR é mais prevalente em homens (83%) com idade entre 30 e 40 anos, e manifestação clínica de meningoencefalite (51,2%). Neste estudo 97,6% dos isolados foram identificados como *C. neoformans var. grubii* (sorotipo A, genótipo VNI) e a letalidades entre os pacientes coinfectados com Cr/HIV-AIDS foi de 60% (AGUIAR et al., 2017). Na região amazônica (Manaus-AM), estudo semelhante foi desenvolvido por Rocha et al. (2018) a partir de 30 casos de Cr, identificando *C. neoformans var. grubii* (genótipo VNI) na totalidade dos casos da coinfeção com HIV-AIDS (n=26), sendo neurocriptococose a forma clínica mais frequente da doença (n= 15; 58%), a qual evoluiu com disseminação hematogênica (fungemia) em 38% dos casos. Neste estudo a coinfeção também acometeu principalmente homens (73%) com idade entre 19 e 68 anos ($39,2\pm 12,3$) e a letalidade foi de 54% (ROCHA et al., 2018).

No sudeste brasileiro, a pesquisa de coorte do Instituto Emilio Ribas (São Paulo-SP), incluindo 98 casos de neurocriptococose causada pelo *C. neoformans*, em adultos com HIV-AIDS, a partir das amostra de LCR, apontou a Cr como condição definidora da AIDS em 31% dos casos clínicos. Este estudo, em concordância com os demais supracitados, evidenciou que a coinfeção acomete principalmente o sexo masculino (78% dos casos) e a mediana de idade entre os coinfectados foi de 38 anos. No entanto, a taxa de letalidade hospitalar registrada em 30%, neste estudo, foi menor se comparada aos relatórios regionais mencionados previamente (VIDAL et al 2012). No Brasil, a Cr não é uma doença de notificação compulsória o que dificulta a estimativa precisa da incidência de casos (BRASIL, 2012).

2.5 Apresentações Clínicas

A infecção criptocócica se desenvolve no organismo do hospedeiro a partir da inalação da levedura dessecada ou basidiósporos presentes na poeira do ambiente, chegando aos pulmões e atingindo os alvéolos (GEUNES-BOYER et al., 2012; BRUNI et al 2017). Após a infecção, o desenvolvimento da doença criptocócica é determinado pela tríade de fatores causais, relacionando fatores do hospedeiro (déficit imunitário), níveis de exposição ambiental

ao patógeno e fatores de virulência do fungo (ARMSTRONG-JAMES, MEINTJES & BROWN, 2014; GIBSON & JOHNSTON, 2014).

Em hospedeiros imunossuprimidos, a replicação e disseminação do patógeno ocorrem em seguimento a invasão pulmonar favorecida pelos fatores de virulência do fungo, considerando a ação antifagocítica da cápsula, a habilidade antioxidativa da melanina e a produção da urease que promovem a invasão do sistema nervoso central (SNC), permitindo ao fungo transpor a barreira hematocefálica por meio das células endoteliais ou contido no interior dos fagócitos. (WOZNIAK et al.; 2012; HENAO-MARTINEZ & BECKHAM, 2015). No entanto, sabe-se que *Cryptococcus* spp. pode infectar outros sítios anatômicos, incluindo a pele, tecidos moles, músculos, ossos e articulações, cabeça e pescoço, os olhos, assim como, o trato geniturinário, gastrointestinal e cardiovascular, além da tireóide e glândulas supra-renais (GEUNES-BOYER et al., 2012, HENAO-MARTINEZ & BECKHAM, 2015). No homem, a próstata pode servir como um importante reservatório para a recidiva da doença em pacientes com alta carga fúngica infectante (EL FANE et al., 2015; MAZIARZ & PERFECT, 2016)

A criptococose pulmonar constitui a fase inicial da doença que se desenvolve como pneumopatia subaguda ou crônica com sintomas de hipertermia, tosse e expectoração mucóide. As lesões pulmonares constituem o foco de disseminação do *C. neoformans* para SNC, gânglios linfáticos e tegumentos (GIBSON & JOHNSTON, 2014). Os pacientes imunossuprimidos, geralmente, desenvolvem a doença com acometimento do SNC, apresentando cefaléia, febre e vômitos como primeiros sinais e sintomas da criptococose (NOGUERA, ESCANDÓN & CASTAÑEDA, 2015). Essa apresentação clínica de meningoencefalite, mais frequentemente diagnosticada, é subaguda de evolução lenta e considerada a forma mais grave da doença (MEZZARI et al., 2013; NOGUERA, ESCANDÓN & CASTAÑEDA, 2015).

Assim, a neurocriptococose se configura como a forma predominante em pacientes HIV/AIDS, apresentando altas taxas de letalidade. Evidências histológicas mediante necropsia mostram o envolvimento do parênquima do sistema nervoso central com o comprometimento de gânglios basais, mesencéfalo e, menos frequentemente, do cerebelo. A presença de grandes criptococomas e infiltrados inflamatórios difusos é frequente em pacientes HIV/AIDS. Ainda podem ser observados múltiplos pseudocistos de aspecto gelatinoso com massiva concentração de *C. neoformans* nos espaços de Virchow-Robin e áreas adjacentes, como consequência da disseminação fúngica ao longo dos espaços perivasculares (KLOCK, CERSKI & GOLDANI, 2009; SILVA JR. & GOLDANI, 2013; HENAO-MARTINEZ & BECKHAM, 2015).

As formas ganglionares da doença podem ser restritas ou coexistir com as demais manifestações clínicas e a forma tegumentar pode se desenvolver por disseminação hematogena, sendo a presença de lesões dermatológicas observada em cerca de 8% dos casos clínicos. Estas lesões apresentam aspectos diversos, desde acnes pustulosas ou úlceras granulomatosas a massas tumorais profundas e exsudativas (WANG et al., 2015). Segundo estudos desenvolvidos por Klock, Cerski & Goldani (2009) pacientes HIV/AIDS com taxa de CD4 abaixo de 100 cel/mm³ apresentam risco potencial para o desenvolvimento da infecção disseminada, sendo que os órgãos mais frequentemente envolvidos são o baço (50%), os intestinos (45%), os pulmões (38%), os rins (38%), o fígado (38%), o pâncreas (18%) e a tireóide (16%). A pesquisa pós - morte de Torres et al. (2016) apresenta um percentual de 68,9% de doença disseminada em 45 pacientes HIV-AIDS com diagnóstico confirmado de criptococose (KLOCK, CERSKI & GOLDANI, 2009; TORRES et al., 2016)

2.6 Diagnóstico da Criptococose

O diagnóstico laboratorial da criptococose pode ser realizado a partir de amostras clínicas de escarro, lavado brônquico ou broncoalveolar, liquor (LCR), secreções de abscessos, urina, aspirados de medula óssea e de gânglios e biópsias teciduais com elevada sensibilidade. Características do fungo como a presença da cápsula, incluindo a massiva presença dos elementos fúngicos no LCR e nas lesões teciduais facilitam a análise por microscopia direta e o diagnóstico imunológico (MITCHELL & PERFECT, 1995; WHO, 2018).

O exame microscópico direto pode ser realizado imediatamente após a punção lombar. A técnica utiliza nigrosina (tinta da china) para visualizar a levedura encapsulada, cuja cápsula é visualizada em contraste negativo (não corada) e se apresenta como um halo claro com diâmetro médio de 5 a 20 µm, envolvendo a célula fúngica (blastoconídio). O exame direto é amplamente utilizado, rápido e de baixo custo. Em pacientes HIV/AIDS apresenta uma sensibilidade de 80% e, nos demais pacientes, sua sensibilidade permanece em torno de 50%. No entanto não permite a identificação do fungo em nível de espécie (CASADEVALL & PERFECT, 1998; SEVERO, GAZZONI & SEVERO, 2009; ARECHAVALA et al.; 2018).

A técnica do cultivo micológico para as amostras clínicas é realizada em ágar Sabouraud acrescido de cloranfenicol e é padrão-ouro para o diagnóstico da criptococose, permitindo o isolamento da levedura em 48 a 72 horas. Outros meios de cultivo que não contenham cicloheximida como Agar-sangue, Agar infusão de cérebro-coração também podem ser utilizados. A sensibilidade para cultura do LCR nos pacientes HIV/AIDS varia entre 95% e 100% e nos pacientes sem infecção HIV se mantem em torno de 90% (MITCHELL &

PERFECT,1995; CASADEVALL & PERFECT,1998; SEVERO, GAZZONI & SEVERO, 2009; CHAE et al., 2012; MAZIARZ & PERFECT, 2016; WHO, 2018). Após isolamento fúngico, para diferenciação em gênero faz-se subcultivo em Agar niger, o qual contém ácidos fenólicos obtidos do extrato de sementes de *Guizotia abyssinica*, componente do meio. Este é um meio diferencial que permite detectar a atividade da fenoloxidase, identificando *Cryptococcus* spp. pela produção da melanina, apresentando colônias de cor marrom, e diferenciando-o de outras leveduras como *Candida* spp. (CHAE et al., 2012; SIDRIM & ROCHA, 2011, BRILHANTE et al., 2017). Já para a diferenciação em espécie é utilizado repique em Agar CGB, cuja técnica é baseada na habilidade do fungo de utilizar a glicina como fonte de carbono e nitrogênio e na resistência a L-Canavanina. *C. gattii* utiliza a glicina e é resistente a L-Canavanina, assim, na degradação da glicina ocorre a produção de amônia e consequente alcalinização do meio, alterando a cor de acordo com o indicador azul de bromotimol, corando o meio na cor azul cobalto ou azul esverdeado forte. Enquanto que *C. neoformans* sofre inibição pela L-Canavanina e consequentemente não metaboliza a glicina, mantendo inalterada a cor do meio de cultivo (SIDRIM & ROCHA, 2012; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ et al., 2013; BÉOGO et al., 2014; ELKHIHAL et al., 2015).

Na análise histopatológica, mediante material de biópsia, a técnica com hematoxilina – eosina (HE) é utilizada na rotina laboratorial para localização e análise do padrão das lesões, podendo também evidenciar o blastoconídio envolto na cápsula mucopolissacarídica. No entanto, a coloração com mucicarmim de Mayer permite a melhor identificação da levedura, devido ao pigmento corar de vermelho púrpura a cápsula do *Cryptococcus* spp., viabilizando inclusive a identificação das estruturas hipocapsuladas. Outras técnicas como a impregnação com a prata pelo método de Gomori-Grocott, PAS e coloração de Fontana Masson também são utilizadas nos cortes histológicos para o diagnóstico da criptococose, no entanto nenhuma delas permite a identificação da espécie fúngica (KLOCK, CERSKI & GOLDANI, 2009; VÁZQUEZ-GONZÁLEZ et al., 2013; MAZIARZ & PERFECT, 2016).

O imunodiagnóstico realizado pela técnica de aglutinação das partículas do látex para detecção de Antígeno Capsular do *Cryptococcus* spp. (CrAg) é considerado o principal teste diagnóstico utilizado na rotina laboratorial para detecção da criptococose. Esta técnica compreende a pesquisa dos antígenos polissacarídeos capsulares, glucuroxilomanana (GXM), galactoxilomanana (GalXM) e manoproteínas (MP) do *Cryptococcus* spp. nos fluidos biológicos corpóreos, usualmente, no soro e LCR (MEZZARI et al., 2013; ROBERT, NAIL-BILLAUD & CLÉMENT, 2015 ARECHAVALA et al.; 2018). Este teste, embora também não permita a identificação da espécie, apresenta taxas de sensibilidade e de especificidade de 95%

e 98%, respectivamente, é de fácil execução, resultado rápido e com inúmeros *kits* comerciais disponíveis e de fácil acesso. Os primeiros desenvolvidos foram com anticorpos policlonais como: Cryptococcus Antigen Latex Agglutination (LA) Test System ou CrAg LA - IMMY Norman; USA/Cryptococcal Antigen Latex Agglutination System (CALAS®) – Meridian Bioscience, Cincinnati, USA e, atualmente, *kits* cujas partículas de látex são revestidas por anticorpos monoclonais, dentre os quais Murex® Cryptococcus – Murex Diagnostic, Norcross; USA/ Pastorex™ Crypto Plus – Bio-Rad; Marnes-la-Coquette, France já estão disponíveis (ROBERT, NAIL-BILLAUD & CLÉMENT, 2015).

A prova do látex é considerada um teste semi-quantitativo, cujos títulos de aglutinação para partículas de látex de 1:4 sugerem fortemente a infecção por *Cryptococcus* spp. e títulos com valores superiores a 1:8 determinam doença ativa. Títulos do látex superiores a 1:1.024 indicam alta carga fúngica associada a déficit imunitário e mau prognóstico. Resultados falso-positivos ocorrem, geralmente, em reação cruzada com fator reumatóide. Testes falsos negativos são raros e podem estar associados a baixos títulos do antígeno, presença de imunocomplexos, altos títulos de anticorpos (fenômeno prozona) e infecção por *Cryptococcus* spp. não capsulados (CASADEVALL & PERFECT,1998; WHO, 2018). A abordagem diagnóstica recomendada prioritariamente para adultos, adolescentes e crianças segundo a WHO (2018) deve ser o teste CrAg por ensaio de fluxo lateral ou de aglutinação de látex, imediatamente à punção lombar ou para amostras de soro ou plasma WHO (2018).

O teste CrAg por ensaio de fluxo lateral (teste rápido) é um ensaio imunocromatográfico que utiliza dois anticorpos monoclonais conjugados a ouro, impregnados em uma fita de teste. Os anticorpos monoclonais garantem a alta qualidade de desempenho do reagente, sendo capaz de identificar todos os sorotipos do *Cryptococcus* spp., fornecendo resultados qualitativos e semiquantitativos e pode ser utilizado para amostras de soro, plasma, líquido cefalorraquidiano ou urina com sensibilidade e especificidade acima de 98% (VIDAL& BOULWARE, 2015).

Exames de imagem não são definidores, porém podem contribuir para o diagnóstico da doença, apresentando como principais sinais da criptococose pulmonar: nódulos isolados ou múltiplos, massas de localização subpleural e consolidação com broncograma aéreo. Na meningoencefalite criptocócica a tomografia computadorizada e a ressonância magnética do crânio, geralmente, mostram-se normais em metade dos casos da doença, nos demais casos, podem revelar hidrocefalia, reforço em torno dos giros, nódulos únicos ou múltiplos (criptococomas) em encéfalo ou leptomeninges e, mais raramente, nódulos miliares

disseminados por todo o sistema nervoso (SEVERO, GAZZONI & SEVERO, 2009; HU et al., 2017).

Em adição, a abordagem do uso de técnicas moleculares para o diagnóstico da criptococose, dentre os quais PCR *fingerprinting*, MLST, espectrofotometria de massa, permitem estudos mais abrangentes sobre a epidemiologia e história natural da doença, assim como o monitoramento das cepas resistentes do microrganismo, identificação de potenciais biomarcadores e mapeamento genético da diversidade de espécies ambientais. Estas novas técnicas somadas as demais preexistentes tendem a otimizar o diagnóstico micológico para melhorar o prognóstico e promover a eficiência no tratamento desta infecção (SIDRIM et al., 2010; CHAE et al., 2012; FENG et al., 2013; RHODES et al., 2017). As técnicas de diagnóstico molecular mais comumente utilizadas para a distinção de tipos moleculares e sorotipos do complexo *Cryptococcus* são PCR-RFLP, RAPD, AFLP, PCR *fingerprinting* e MLST. Técnicas de PCR e MLST também são utilizadas na distinção do *mating type*. Para distinção da ploidia, a técnica mais utilizada, recentemente, tem sido a citometria de fluxo (LIN et al., 2009; SIDRIM et al., 2010; ZHAL et al., 2013; DESNOS-OLLIVIER et al., 2015; FERREIRA-PAIM et al., 2017).

2.7 Tratamento da Criptococose

Os antifúngicos utilizados para tratamento da Cr se restringem a três: anfotericina B e seus derivados lipossômicos, 5-fluorocitosina (5FC) e fluconazol, sendo considerado o “padrão ouro” de tratamento a combinação de anfotericina B e 5FC, capaz de garantir ação fungicida mais rápida e maior chance de sobrevida. No entanto, o manejo clínico da doença deve levar em consideração o sítio da infecção e a condição imunológica do paciente (PERFECT & BICANIC, 2015; MURAD & PERFECT, 2018).

De acordo com as diretrizes da WHO (2018), o tratamento da Cr é dividido em três fases: terapia de indução inicial durante duas semanas com Anfotericina B, seguida pela terapia de consolidação de 8 semanas e subsequente terapia de manutenção com Fluconazol, continuada por 6-12 meses e / ou até o restabelecimento da imunidade do hospedeiro (MAZIARZ & PERFECT, 2016; WHO, 2018). Por conseguinte, a fase de indução tem por objetivo reduzir ou negatar efetivamente a carga fúngica, a fase de consolidação mantém a negatividade micológica, normalizando os parâmetros clínicos e laboratoriais e a fase de manutenção garante a supressão micológica e esterilidade do LCR (WILLIAMSON et al., 2017; MOLLOY et al, 2018).

Seguindo as recomendações da WHO (2018) para tratamento preferencial da meningoencefalite em adultos, adolescentes e crianças, vivendo com AIDS, é estabelecido um regime de indução de curta duração (uma semana) com anfotericina B (1,0 mg / kg / dia) e flucitosina (100 mg / kg / dia , dividido em quatro doses por dia), seguido por uma semana de fluconazol (1200 mg / dia para adultos, 12 mg / kg / dia para crianças e adolescentes, até uma dose máxima de 800 mg por dia (WHO, 2018). Para a profilaxia secundária é recomendado o uso do fluconazol (200 mg por dia para adultos, 6 mg / kg / dia para adolescentes e crianças). Incluído a terapêutica fungicida, deve ser adicionado um esquema de hidratação preventiva e substituição de eletrólitos com o monitoramento da toxicidade para minimizar os eventos adversos do tratamento (MAZIARZ & PERFECT, 2016; MOLLOY & KANYAMA, 2018; WHO, 2018). A anfotericina B desoxicolato tem propriedades nefrotóxicas e, geralmente, associa a hipocalcemia como evento adverso da medicação, portanto, formulações lipídicas de anfotericina B são as que oferecem menor toxicidade, no entanto, pelo seu alto custo, não são disponibilizadas regularmente para a maioria dos hospitais públicos e centros de referência HIV/AIDS no Brasil (LIGHTOWLER et al., 2010; WILLIAMSON et al., 2017, BRASIL, 2018).

Além da terapêutica fungicida, o monitoramento da pressão intracraniana é preconizado a partir da punção lombar inicial para os casos de neurocriptococose, pois este é um fator de risco relevante para um pior prognóstico da doença. Para o manejo da hipertensão intracraniana, secundária a doença criptocócica são adotadas as condutas a seguir: quando a pressão de abertura liquórica for superior a 25 cm H₂O e estiverem presentes sinais de edema cerebral, esta deve ser reduzida em 50% da pressão inicial por meio de punção lombar (PL) de alívio (normalmente com retirada de 20 a 30 ml de líquido). A PL de alívio deve ser repetida diariamente até a estabilização da PIC; na presença de PIC estável e normal em duas aferições consecutivas, recomenda-se PL semanal para monitoramento de resposta terapêutica e quando a PIC se mantiver persistentemente elevada após duas semanas de PL diária, é recomendada a abordagem neurocirúrgica para derivação liquórica (BRASIL,2018; WHO, 2018). A derivação liquórica é indicada para aqueles pacientes que não toleram a punção diária e persistem com sinais e sintomas de edema cerebral (AZAMBUJA et al., 2018; BRASIL, 2018).

A TARV é recomendada para todos os pacientes coinfectados com Cr/ HIV-AIDS, no entanto, há o risco de interação medicamentosa e eventos adversos da medicação, decorrente da toxicidade pelo uso de vários fármacos, além do risco de desenvolvimento da Síndrome Inflamatória de Reconstituição Imune (IRIS), sendo recomendado, preferencialmente, a fase de manutenção da terapia antifúngica para instituir a TARV, devido ao paciente se encontrar no

momento de maior estabilidade clínica (MANOSUTHI et al., 2015; MOURAD & PERFECT, 2018).

A falha terapêutica tanto pode estar relacionada a fatores do hospedeiro quanto a existência de cepas de *Cryptococcus* resistente aos antifúngicos. Cannon et al. (2009), sugere que a resistência aos azóis é determinada pela mutação do gene *C. neoformans* ERG11 com consequente aumento do efluxo das drogas, sendo que, a resistência pode ser adquirida durante a terapia de manutenção prolongada. Enquanto que, a resistência cruzada a Anfo B e Fluconazol se refere a mutação do gene *C. neoformans* ERG2p ou ERG3p, a qual resulta em uma redução dos níveis de ergosterol (CANNON et al., 2009). Basso et al. (2015), em estudo experimental, identificou a expressão de genes mutantes *C. gattii* e *C. neoformans* (AFR1, MDR1 e AFR2) codificadores dos transportadores ABC (bombas de efluxo), os quais bombeiam múltiplos azóis, resultando na resistência aos fármacos (BASSO et al., 2015).

2.8 Coinfecção com Criptococose e HIV/AIDS

A despeito da era pós TARV e da comoção global para erradicação da pandemia da AIDS (meta 90-90-90), somando avanços terapêuticos responsáveis pela redução significativa da mortalidade, a infecção criptocócica emerge como o indicador de uma lacuna na efetividade dos Serviços de Assistência Especializada (SAE), cujo teste rápido para diagnóstico precoce e a adesão dos soropositivos a TARV, de forma ininterrupta permanecem como uma prioridade urgente (RAJASINGHAM et al, 2017; UNAIDS, 2018).

Conforme já citado previamente, o principal agente etiológico da Cr em pacientes que desenvolvem a AIDS é o *C. neoformans* var. *grubii* (DESJARDINS et al., 2017; FERREIRA-PAIM et al., 2017; RHODES et al., 2017). Em tais pacientes, a principal manifestação clínica é a meningoencefalite, prevalecendo em 70% a 90% dos casos da infecção. A forma disseminada ocorre, mais frequentemente, naqueles pacientes com a doença em estágio avançado, cuja taxa de TCD4⁺ está abaixo de 100 cel/mm³ (ANTINORI, 2013; ARMSTRONG-JAMES, MEINTJES & BROWN, 2014; TORRES et al., 2016). A meningite criptocócica cursa como uma infecção subaguda, cujos primeiros sintomas são cefaléia, febre e vômitos. No decorrer do processo infeccioso podem aparecer sinais como alterações da consciência, rigidez de nuca e coma. Na análise citoquímica do líquido cefalorraquidiano (LCR) compatível com neurocriptococose pode ser observado, na maioria dos pacientes, LCR de aspecto incolor, pleocitose (acima de 10 cel/mm³) linfomonocitária, hipoglicorraquia e hiperproteínorraquia. No teste de aglutinação do látex, títulos com valores acima 1:1.024 sugerem alta carga fúngica,

acompanhada de déficit imunitário e pior prognóstico para pacientes HIV/AIDS (KADJO et al., 2011; GBANGBA-NGAI et al., 2014, PERFECT & BICANIC, 2015; WHO, 2018).

Estudos *in vitro* sustentam a hipótese da interação sinérgica entre o vírus HIV e *C. neoformans*, de forma que o vírus causa a degradação das células de resposta inflamatória do sistema imunológico do hospedeiro, contribuindo para a disseminação da infecção criptocócica, enquanto que *C. neoformans*, reciprocamente, é capaz de induzir e acelerar a replicação do RNA viral favorecendo a progressão da AIDS (CASADEVALL & PERFECT, 1998; CHANG et al., 2013). A Cr é reconhecida como uma condição definidora da AIDS (ANTINORI, 2013; CHEN et al., 2015; ROCHA et al., 2018). Segundo Abara et al. (2016), as condições definidoras de HIV/AIDS são as causas principais de hospitalização e de doença avançada nos pacientes que desenvolvem a síndrome, apresentando alto impacto na adesão do paciente a TARV relacionadas as limitações física e psicológicas quanto a perspectiva da doença, tanto quanto, a carga de toxicidade e eventos adversos da terapia medicamentosa com multidrogas, os quais podem desencorajar o uso e comprometer a adesão ideal ao tratamento (ABARA et al., 2016).

As complicações decorrentes da evolução da doença podem incluir insuficiência respiratória, hidrocefalia, acidente vascular cerebral e criptococemia que, igualmente, incidem negativamente sobre o prognóstico da letalidade (CHEN et al., 2015, TORRES et al., 2016). Neste ínterim, ainda se pode considerar mais um fator determinante da mortalidade, a presença de coinfeções oportunistas concomitantes associadas a Cr, que acometem os pacientes com AIDS, dentre as quais, se destacam a tuberculose, a pneumocistose e a neurotoxoplasmose (KRA et al., 2013; KATCHANOV et al., 2014, FANG et al., 2017).

A Cr atinge mais frequentemente os homens do que as mulheres, assim como, o HIV-AIDS concentra a maior prevalência de casos na população masculina (BRASIL, 2017; UNAIDS 2018; WHO, 2018). Sob o mesmo contexto, Lortholary et al. (2002) observa, a partir de experimento *in vivo*, o potencial efeito protetor dos hormônios femininos na defesa contra a infecção por *C. neoformans*. A partir de estudos com murinos, foi evidenciada a produção de altos níveis de citocinas no plasma das fêmeas infectadas com *C. neoformans*, assim como, concentrações elevadas de TNF- α and IFN- γ presentes no baço e no sangue, relacionados a expressão do 17β estradiol e da progesterona, mas, não da testosterona, supondo uma potencial atividade hormonal no controle da infecção criptocócica nas fêmeas, que somada a outros aspectos da resposta imune, explicaria a menor taxa de incidência da coinfeção Cr/TB no sexo feminino (LORTHOLARY et al., 2002).

Com relação a forma clínica prevalente da Cr nos pacientes com AIDS, estudos realizados no Instituto de Doenças Infecciosas Emilio Ribas, em São Paulo, além de evidenciarem a Cr como principal causa de morte por infecção oportunistica nestes pacientes, revelaram que a neurocriptococose integrou 80% dos casos da doença (VIDAL et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014). Nos pacientes estudados por Vidal et al. (2012), a meningoencefalite representou, aproximadamente, 50% dos casos letais, cujos principais fatores de risco associados ao óbito foram os sintomas persistentes por mais de 14 dias, alterações do estado de consciência, carga viral HIV superior a 50.000 cópias/ml e descontrole persistente da pressão intracraniana com valores acima de 50 cmH₂O (VIDAL et al., 2012).

Este estudo, em conformidade com outros descritos na literatura científica, aponta os principais fatores de risco para o desenvolvimento da Cr em pacientes HIV/AIDS a considerar: níveis de TCD4 inferior a 100 cel/mm³, carga viral superior a 50.000 cópias/ml, baixa adesão a TARV, patogenicidade da estirpe infectante. Ainda é importante destacar certas condições que corroboram com o risco para a infecção oportunistica, como diagnóstico tardio do HIV-AIDS e a baixa suspeição clínica da coinfeção com conseqüente retardo do diagnóstico e, ainda a existência de cepas *C. neoformans* resistentes aos antifúngicos, o que predispõe à falha terapêutica (KADJO et al., 2011; VIDAL et al., 2012; ANTINORI, 2013; GBANGBA-NGAI et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2014; KWENZERA et al., 2014; KIM et al., 2015).

A alta letalidade da Cr está diretamente relacionada a fatores prognósticos negativos, dentre os quais estão a elevada carga fúngica infectante (título do látex > 1:1.024), baixa do sensório como primeiros sintomas da doença, ausência de resposta inflamatória no LCR (< 20 cels/mm³), doença disseminada e imunossupressão avançada (linfócitos T CD4 < 50 cels/mm³)(JARVIS et al., 2014). Outrossim, a IRIS pode manifestar-se como uma resposta inflamatória exacerbada, determinada pela recuperação do sistema imune mediada pela TARV, principalmente nos pacientes com contagem baixa de células TCD4⁺. Este fenômeno pode ocasionar a deterioração clínica do paciente coinfectado, além de favorecer a recidiva da Cr em conseqüência do uso de fármacos imunossupressores para a resolução da IRIS (GOPAL, RAPAKA & KOLLS, 2017). O estudo de coorte realizado por Nascimento et al. (2016) chama a atenção para a o elevado índice de letalidade relacionado a Cr refratária ou recorrente, a qual atingiu em tal estudo o dobro do percentual de óbitos das séries de casos brasileiros, apresentando índice de mortalidade próximo a 70% (VIDAL et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014; NASCIMENTO et al., 2016).

2.9 Coinfeção com Criptococose e Tuberculose em Pacientes HIV/AIDS

A coinfeção Criptococose (Cr) e Tuberculose (TB) em pessoas vivendo com HIV-AIDS, antes considerada uma entidade rara, hoje emerge em várias partes do mundo, principalmente nos países onde há uma alta incidência da TB (HUANG et al., 2010; CHEN et al., 2016; ESCADA et al., 2017; FANG et al., 2017, CACERES et al., 2018). Na literatura científica, o primeiro relato da coinfeção Cr+TB data de 1951 nos EUA (RODGER et al., 1951), no entanto, embora tenha havido um aumento na sua casuística com o advento da pandemia HIV-AIDS, ainda hoje, esta coinfeção continua severamente subestimada (SHING et al., 2013; HUANG, 2014; FANG et al., 2017).

A descrição da tripla infecção CR/TB/HIV-AIDS é encontrada em relatos de séries de casos de Huang et al, 2010 (23 casos, sendo 11 pacientes HIV-AIDS) em Taiwan, compreendendo um período de 14 anos e de Chen et al., 2016 na China (8 casos) avaliando um período de 15 anos e , ainda, na metanálise de Fang et al, 2017 na China (HUANG et al., 2010; CHEN et al., 2016; FANG et al., 2017). A revisão sistemática sobre coinfeção Cr/TB na China entre 1965 e 2016, realizada por Fang et al. (2017), incluindo 56 estudos que permitiram levantar 197 casos, evidenciou taxas médias de incidência desta coinfeção entre 5,4 e 26,7% nos pacientes com diagnóstico de Cr, e entre 0,6 e 9,7% nos pacientes com TB. Mais da metade dos casos da coinfeção (56,3%) foi descrita entre os anos de 2010 e 2015, com os dois maiores estudos relatando 23 e 52 casos. Considerando este último período do estudo, a média de casos descritos foi de 18,5 casos/ano em todo o país, visto que, a China detém 63% dos casos Cr/TB relatados no mundo (FANG et al., 2017). No Brasil, a produção científica quanto a coinfeção Cr/TB/HIV-AIDS é rara, apresentando como relatos de maior relevância a investigação pós - mortem de Gutierrez et al, 2002 (4 casos) no Estado de São Paulo (período de 3 anos) e o estudo observacional de Escada et al., 2017 (3 casos) no estado do Rio de Janeiro, no período de 2000 a 2010 (GUTIERREZ et al., 2002; ESCADA et al., 2017)

A coinfeção Cr/TB/HIV-AIDS pode apresentar associações distintas nas manifestações clínicas da doença, sendo considerada a mais grave Cr meningite/Tb meningite. É predominante em homens e dentre os sinais e sintomas da coinfeção mais frequente estão a febre, de um modo geral, e a cefaléia naqueles pacientes com acometimento do SNC, por quanto, tosse e dispnéia seguem como sintomas comuns as formas pulmonares da coinfeção (SINGH et al., 2013 SHIMODA et al., 2014). Soumaré et al. (2005), evidencia a intensificação da gravidade dos sintomas comparando os casos da dupla infecção Cr/HIV-AIDS com os casos da tripla, e mais grave infecção, Cr/TB/HIV-AIDS nos pacientes estudados em Dakar na África, relacionando os sinais de déficit neurológico ao aumento das taxas de letalidade (SUMARÉ et al., 2005; EL FANE et al., 2015). Não obstante a associação entre linfocitopenia

de TCD⁴⁺ ocasionada pelo HIV favorecer o desencadeamento da Cr e da TB, tanto a TB pode ser um fator de risco independente para o desenvolvimento da Cr por ocasionar supressão da imunidade inata, quanto a Cr, supostamente, predispõe os pacientes à reativação da TB por inibição da produção do TNF- α (HUFFNAGLE et al., 1995; BOTTASSO et al., 2009; JARVIS et al., 2010; WILLCOCKS & WREN, 2014)

Considerando o perfil clínico dos relatos de casos de pacientes coinfectados é possível concluir que a tripla coinfeção Cr/TB/HIV-AIDS tem efeitos deletérios mútuos que agravam o processo da doença e aumentam significativamente o risco de letalidade (JARVIS et al, 2010; KAKEYA et al., 2014; WILLCOCKS & WREN, 2014; THENFORDE et al., 2017). Neste ínterim baixos níveis de TCD4 (<100 cells/ μ l) e alta carga viral >50.000cel/mm³, os quais são fortes preditores de imunossupressão grave, indicam pior prognóstico para a coinfeção Cr/TB, bem como, a alta carga fúngica infectante evidenciada naqueles pacientes com título da prova do látex \geq 1024 (PERFECT et al., 2010; SINGH et al., 2013; ESCADA et al.; 2017; CACERES et al., 2018).

Singh et al. (2013) observa nos achados de três casos clínicos da coinfeção Cr/TB que a sobreposição dos sintomas dificulta a suspeição clínica e que o atraso no diagnóstico foi a principal causa do aumento da mortalidade (SINGH et al.,2013). Da mesma forma, Siddiq et al., 2014 em levantamento de 331 casos de coinfeções do SNC em pacientes HIV-AIDS na Zambia -Índia, revela que as coinfeções com TB e/ou Cr tendem a uma maior chance de morte, no entanto, comprova, neste mesmo estudo, que a terapia com AnfoB reduziu a taxa de mortalidade da coinfeção Cr/HIV-AIDS de 100% para 39%, evidenciando que as falhas no diagnóstico e a ausência de tratamento antifúngico, somada a imunossupressão grave, foram responsáveis pela alta taxa de óbito (SIDDIQ et al., 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Estudar os aspectos clínico-epidemiológicos e laboratoriais da criptococose em pacientes HIV/AIDS atendidos no serviço de referência do Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Correa Jr. da Universidade Federal do Rio Grande (SAE-HU-FURG).

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1 Avaliar a prevalência da criptococose e o perfil da população acometida pela doença no SAE-HU-FUR

3.2.2 Avaliar o desfecho dos pacientes HIV diagnosticados com criptococose;

3.2.3 Avaliar os fatores de mau prognóstico (níveis de CD4, carga viral, altos títulos de CrAg, comorbidades) e sua relação com o desfecho na população estudada;

3.2.4 Estudar os casos de coinfeção Cr e TB nos pacientes HIV-AIDS.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABARA W.E.; XU J.; ADEKEYE O.A.; RUST G. The association between combination antiretroviral adherence and AIDS -defining condition at HIV diagnosis. **AIDS Care**. 2016; 28, 8:1013-1017.
2. AGUIAR P.; PEDROSO R.D.S.; BORGES A.S.; MOREIRA T.A.; ARAUJO L.B.; RODER D. The epidemiology of cryptococcosis and the characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated in a Brazilian University Hospital. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. 2017: e13-59.
3. ALSPAUG A. Virulence mechanisms and *Cryptococcus neoformans* pathogenesis. **Fung. Genet. Biol.** 2015;78: 55–58.
4. ANTINORI S. New Insights into HIV/AIDS-Associated Cryptococcosis. **ISRN AIDS** 2013; 2013: 1-22.
5. ARECHAVALA A.; NEGRONI R.; MESSIN F.; ROMERO M.; MARÍN E.; DEPARDO R.; WALKER L.; ASANTISO G. Cryptococcosis in an Infectious Diseases Hospital of Buenos Aires, Argentina. Revision of 2041 cases: Diagnosis, clinical features and therapeutics. **Rev. Iberoam. Micol.** 2018; 35, 1:1-10.
6. ARMSTRONG-JAMES D.; MEINTJES G.; GORDON D. BROWN G.D. A neglected epidemic: fungal infections in HIV/AIDS. **Trends Microbiol.** 2014; 22, 3: 120-127.
7. AZAMBUJA A.Z.; WISSMANN NETO G.; WATTE G.; ANTONIOLLI L; GOLDANI L.Z. Cryptococcal Meningitis: A Retrospective Cohort of a Brazilian Reference Hospital in the Post-HAART Era of Universal Access. **Can. J. of Infect. Dis. Med. Microbiol.** 2018; 2018:1-5.
8. BASSO Jr. L.R.; GAST C.E.; BRUZUAL I; WONG B. Identification and properties of plasma membrane azole efflux pumps from the pathogenic fungi *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans*. **J. Antimicrob. Chem.** 2015; 70: 1396-1407.
9. BÉOGO R.; ANDONABA J.B.; BAMBA S.; KONSÉGRÉ V.; DIALLO B.; TRAORÉ A. La cryptococose: une étiologie potentielle d'ulcération faciale. **J. Mycol. Méd.** 2014; 24: e185 - e188.ab
10. BOTTASSO O.; BAY M.L.; BESEDOVSKY H.; DEL REY A. Immunoendocrine alterations during human tuberculosis as an integrated view of disease pathology. **Neuroimmun.** 2009; 16:68–77.
11. BOVERS M.; HAGEN F.; BOEKHOUT T. Diversity of the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex. **Rev. Iberoam. Micol.** 2008; 25: S4-S12.
12. BRASIL. Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico - HIV Aids Julho de 2017 a junho de 2018**. Brasília. DF. 2018; 49,53: 60-63. Publicado em 27/11/2018. Acessado em <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2018/boletim-epidemiologico-hivaid-2018>. Na data de 03/11/2018 as 15h e 44min
13. _____ Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/AIDS e das hepatites virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos**. Brasília. DF. Agosto de 2018. 412 pgs. Acessado em www.saude.gov.br/bvs. em 25/11/2018 as 20h e 57min.
14. _____ Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico 2017- Aids e ISTs**. Brasília .DF. Acessado em <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/boletim-epidemiologico-hivaid-2017>, em 25/11/2018 as 21h e 2 min.

15. _____ Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. Unidade de Vigilância das Doenças de Transmissão Respiratória e Imunopreveníveis. **Vigilância Epidemiológica da Criptococose**. Brasília, DF Abril de 2012. Disponível em http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-05/proposta_ve-criptococose1.pdf, Acessado em 14/11/2018, às 21h e 52min
16. BRILHANTE R.S.N.; ESPAÑA J.D.A.; DE ALENCAR L.P.; PEREIRA V.S.; CASTELO-BRANCO D.S.C.M.; PEREIRA-NETO W.A.; CORDEIRO R.A.; SIDRIM J.J.C.; ROCHA M.F.G. An alternative method for the analysis of melanina production in *Cryptococcus neoformans* sensu lato and *Cryptococcus gattii* sensu lato. **Mycoses**. 2017; 60, 1, 10: 697-702.
17. BRITO-SANTOS F.; BARBOSA G.G.; TRILLES L.; NISHIKAWA M.M.; BODO WANKE B.; MEYER W.; CARVALHO-COSTA F.A.; LAZÉRA M.S. Environmental Isolation of *Cryptococcus gattii* VGII from Indoor Dust from Typical Woen Houses in the Deep Amazonas of the Rio Negro Basin. **PLoS ONE**. 2015; 10, 2: e0115866.
18. BRUNI G.O.; BLAKE B.; KELLY B.; ZHANG Z.; WHANG P. Comparative proteomic analysis of Gib2 validating its adaptor function in *Cryptococcus neoformans* **PLoS One**. 2017; 12.7: e0180243.
19. CACERES D.H.; TOBÓN Á.M.; RESTREPO Á.; CHILLER T.; BEATRIZ L. GÓMEZ L.B. The important role of co-infections in patients with AIDS and progressive disseminated histoplasmosis (PDH): A cohort from Colombia. **Med. Mycol**. 2018; 19: 41–44.
20. CANNON R.D.; LAMPING E.; HOLMES A.R.; NIIMI K.; PV BARET P.V. et al. Efflux-mediated antifungal drug resistance **Clin. Microbiol**. 2009; 22, 2: 291-321.
21. CASADEVALL. A.; PERFECT J. *Cryptococcus Neoformans*.. ASM Pres, Washington DC. 1998. p: 1-519.
22. CHAE H.S.; PARK G.N.; KIMS.H.; JO H.J.; KIM J.T.; JEOUNG H.Y.; AN D.J.; KIM N.H.; SHIN B.W.; KANG Y.I.; CHANG K.S. Rapid direct identification of *Cryptococcus neoformans* from pigeon droppings by nested PCR using CNLAC1 gene. **Poul. Sci**. 2012; 91, 8: 1983 - 1989.
23. CHANG C. C.; CRANE M.; ZHOU J.; MINA M. POST J.J.; CAMERON B.A.; LLOYD A. R.; JAWOROWSKI A.; FRENCH M.A.; LEWIN S.R. HIV and co-infections. **Immunol Rev**. 2013; 254, 1: 114-42.
24. CHEN M.; AL-HATMI A. M.; CHEN Y.; YING Y.; FANG W.; XU J.; HAGEN F.; HONG N.; BOEKHOUT T.; LIAO W.; PAN, W. Cryptococcosis and tuberculosis co-infection in mainland China. **Emerg. Microb. & Infect**. 2016; 5, 9: e98
25. CHEN S.C.A.; MEYER W.; SORREL T.C. *Cryptococcus gattii* Infections. **Clin. Microbiol. Rev**. 2014; 27, 4: 980-1024.
26. CHEN Y.; CHANG T.; LIU J.1,2, CHEN F.; CHIEN C.; LEE C.; LU C.H. Increasing trend of fluconazole-non-susceptible *Cryptococcus neoformans* in patients with invasive cryptococcosis: a 12-year longitudinal study. **BMC Infect. Dis**. 2015; 15: 277.
27. CHEN, Y.; FARRER, R.A.; GIAMBERARDINO, C.; SAKTHIKUMAR, S.; JONES, A.; YANG, T.; TENOR, J.L.; WAGIH, O.; VAN WYK, M.; GOVENDER, N.P.; MITCHELL, T.G.; LITVINTSEVA, A.P.; CUOMO, C.A.; PERFECT, J.R. Microevolution of Serial Clinical Isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* and *C. gattii*. **mBio**. 2017; 8, 2: e00166-17.
28. DANZÉ C.; LUCENA R.; GOMES I.; MELO A. Características clínicas laboratoriais de 104 casos de meningoencefalite criptocócica. **Rev Soc Bras Med Trop**. 2000; 33: 21-6
29. DEL POETA M.; CASADEVALL A. Ten Challenges on *Cryptococcus* and Cryptococcosis **Mycopathol**. 2012; 173: 303 - 310.
30. DENHAM S.T.; VERMA S.; REYNOLDS R.C.; WORNE C.L.; DAUGHERTY J.M.; THOMAS E.; LANE T.E.; BROWN J.C.S. Regulated Release of Cryptococcal Polysaccharide Drives Virulence and Suppresses Immune Cell Infiltration into the Central Nervous System. **Infect. and Immun**. 2018; 86, 3: e00662-17

31. DESJARDINS, C. A., GIAMBERARDINO, C., SYKES, S. M., YU, C.-H., TENOR, J. L., CHEN, Y.; CUOMO, C. A. et al. Population genomics and the evolution of virulence in the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. **Gen Res.** 2017 27,7: 1207–1219.
32. DESNOS-OLLIVIER M.; PATEL S.; RAOUX-BARBOT D.; HEITMAN J.; DROMER F. Cryptococcosis Serotypes Impact Outcome and Provide Evidence of *Cryptococcus neoformans* Speciation. **mBio.** 2015; 6, 3: e00311-15.
33. EL FANE M.; BADAOU L.; OULADLAHSEN A.; SODQI M.; MARIH L.; CHAKIB A.; EL FILALI KM. La cryptococcose au cours de l'infection à VIH. *J. Mycol. Méd.* 2015; 25 :257-262.
34. ELKHIHAL B.; HASNAOUI A.; GHFIR I.; MOUSTACHI A.; AOUI S.; LYAGOUBI M. Cryptococcose disséminée chez un patient immunocompétent. *J. Mycol. Méd.* 2015; 25, 208- 212.
35. ESCADA R.O.S.; VELASQUE L.; RIBEIROS.R.; CARDOSO S.W.; MARINS L.M.S.;GRINSZTEJN E.;LOURENÇO M.C.S.; GRINSZTEJN B.; VELOSO V.G. Mortality in patients with HIV-1 and tuberculosis co-infection in Rio de Janeiro, Brazil-associated factors and causes of death. **BMC Infect. Dis.** 2017; 17, 373: 1-10.
36. FANG W.; ZHANG L.; LIU J.; DENNING, D. W.; HAGEN F.; JIANG W.; HONG N.; DENG S.; LEI X.; DENG D.; LIAO W.;XU J.;BOEKHOUT T.; CHEN M; PAN W. Tuberculosis/cryptococcosis co-infection in China between 1965 and 2016. **Emerg. Microb. & Infect.** 2017; 6, 8: e73–
37. FENG X.; FU X.; LING B.; WANG L.; LIAO W.; YAO Z. Development of a Singleplex PCR Assay for Rapid Identification and Differentiation of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*, *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, *Cryptococcus gattii*, and Hybrids. **J. Clin. Microbiol.** 2013; 52,6: 1920 -1923.
38. FERETZAKI M.; HARDISON S.E.; WORMLEY JR. F.L.; HEITMAN J. *Cryptococcus neoformans* hyperfilamentous strain is hypervirulent in a murine model of cryptococcal meningoencephalitis. **PLoS One.** 2014; 9, 8: e104432.
39. FERREIRA-PAIM K.; ANDRADE-SILVA L.; FONSECA F.M.;FERREIRA T.B.; MORA D.J.; ANDRADE-SILVA J.; KHAN A.; DAO A.; E.C.; ALMEIDA M.T.G.; MALTOS A.; JUNIOR V.R.; TRILLES L.; RICKERTS V.; CHINDAMPORN A.; SYKES J.E.; COGLIATI M.; NIELSEN K.; BOEKHOUT T.; FISHER M.; KWON-CHUNG J.; ENGELTHALER D.D.; LAZE'RA M.; MEYER M.; SILVA-VERGARAM.L. MLST-Based Population Genetic Analysis in a Global Context Reveals Clonality amongst *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* VNI Isolates from HIV Patients in Southeastern Brazil. **PLOS Negl. Trop. Dis.** 2017; 11,1: 1-29.
40. FILIÚ W.F.O.; WANKE B.; AGÜENA S.M.; VILELA V.O.; REGINA CÉLIA LIMA MACEDO R.C.L.; LAZÉRA M. Cativoiro de aves como fonte de *Cryptococcus neoformans* na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 2002; 35, 6: 591-595.
41. FIRACATIVE C.; LIZARAZO J.; ILLNAIT-ZARAGOZÍ M.T.; CASTAÑEDA E. The status of cryptococcosis in Latin America. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 2018.113; 7: e170554.
42. GARCÍA-RODAS R.; CORDERO R.J.B.; TREVIJANO-CONTADOR N.; JANBON G.; MOYRAND F.; CASADEVALL A.; ZARAGOZA O. Capsule Growth in *Cryptococcus neoformans* Is Coordinated with Cell Cycle Progression. **M.Bio.** 2014; 5,3: e00945-14
43. GARCÍA-RODAS R.; TREVIJANO-CONTADOR N, ROMÁN E.; JANBON G.; MOYRAND F.; PLA J.; 2, CASADEVALL A.; ZARAGOZA O. Role of Cln1 during melanization of *Cryptococcus neoformans*. **Front. Microbiol.** 2015; 6, 798:1-9.
44. GBANGBA-NGAI E.; FIKOUMA V.; MOSSORO-KPINDE C.D.; TEKPA G.; OUAVERNE J.O.; YANGBA MONGBA D.S.A.; MBELESSO P. La cryptococcose neuroméningée au cours de l'infection à VIH à Bangui, à l'ère du traitement antirétroviral. **Bull. Soc. Pathol. Exot.** 2014; 107: 106-109.

45. GEUNES-BOYER S.; BEERS M.F.; PERFECT J.R.; HEITMAN J.; WRIGHTA J.R. Surfactant Protein D Facilitates *Cryptococcus neoformans* Infection. **Infect. and Immun.** 2012; 80, 7: 2444 -2453.
46. GYAWALI R.; UPADHYAY S.; WAY J.; X LIN X. A family of secretory proteins is associated with different morphotypes in *Cryptococcus neoformans*. **Appl. Environ. Microbiol.** 2017; 83, 5: e02967-16.
47. GIBSON J. F.; JOHNSTON S. A. Immunity to *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* during cryptococcosis. **Fungal Gen. Biol.** 2014: 1-11.
48. GOPAL R, RAPAKA RR, KOLLS JK. Immune reconstitution inflammatory syndrome associated with pulmonary pathogens. **Eur Respir Rev** 2017; 26: 1-8.
49. GUPTA G.; FRIES B.C. Variability of phenotypic traits in *Cryptococcus* varieties and species and the resulting implications for pathogenesis. **Fut. Microbiol.** 2010; 5, 5: 775–787.
50. GUTIERREZ E.B.; ZANETTA D.M.T.; SALDIVA P.N.H.; CAPELOZZI V.L. Autopsy-proven determinants of death in HIV-infected patients treated for pulmonary tuberculosis in Sao Paulo, Brazil. **Pathol. Res. Pract.** 2002;198: 339–346.
51. HAGEN F.; KHAYHAN K.; TELEN B.; KOLECKA A.; POLACHECK I.; SIONOV E; FALK R.; PARNMEN S.;LUMBSCH H.T.; BOEKHOUT T. Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii/Cryptococcus neoformans* species complex. **Fung. Gen. Biol.** 2015; 78: 16–48.
52. HAGEN F, LUMBSCH H.T.; ARSIC ARSENJEVIC V.; BADALI H.; BERTOUT S.; BILLMYRE R.B.; BRAGULAT M.R.; CABAÑES F.J.; CARBIA M.; CHAKRABARTI A.; CHATURVEDI S.; CHATURVEDI V.; CHEN M.; CHOWDHARY A.; COLOM M.F.; CORNELLY O.A.; CROUS P.W.; CUÉTARA M.S.; DIAZ M.R.; ESPINEL-INGROFF A.; FAKHIM H.; FALK R.; FANG W.; HERKERT P.F.; RODRÍGUEZ C.F.; FRASER J.A.; GENÉ J.; GUARRO J.; IDNURM A.; ILLNAIT-ZARAGOZI M.T.; KHAN Z.; KHAYHAN K.; KOLECKA A.; KURTZMAN C.P.; LAGROU K.; LIAO W.; LINARES C.; MEIS J.F.; NIELSEN K.; NYAZIKA T.K.; PAN W.; PEKMEZOVIC M.; POLACHECK I.; POSTERARO B.; TELLES F.Q.; FILHO, O.R.; SÁNCHEZ M.; SAMPAIO A.; SANGUINETTI M.; SRIBUREE P.; SUGITA T.; TAJ-ALDEEN S.J.; TAKASHIMA M.; TAYLOR J.W.; THEELEN B.; TOMAZIN R.; VERWEIJ P.E.; WAHYUNINGSIH R.; WANG P.; BOEKHOU T.; Importance of Resolving Fungal Nomenclature: the Case of Multiple Pathogenic Species in the *Cryptococcus* Genus. **MSphere.** 2017; 2, 4: e00238-17.
53. HASIMOTO E SOUZA L.K.; COSTA C.R.; FERNANDES O.F.; ABRÃO F.Y.; SILVA T.C.; TREMÉA C.M., et al. Clinical and microbiological features of cryptococcal meningitis. **Rev Soc Bras Med Trop.** 2013; 46, 3:343–347.
54. HENAO-MARTÍNEZ A.F.; BECKHAM J.D. Cryptococcosis in solid organ transplant recipients. **Curr Opin Infect Dis.** 2015; 28, 4: 300–307.
55. HU J.; HU H.; XIE S.; YANG X.; ZHONG Y.; YIJIE SHI Y. CT and CT-guided Percutaneous Needle Biopsy in Diagnosis of Primary Pulmonary Cryptococcosis in Immunocompetent Patients. **Current Medical Imaging Reviews.** 2017, 13, 83-88.
56. HUANG C.L.; CHEN C.T.; WU S.W.; LIN T.Y. Simultaneous coinfection with *Cryptococcus neoformans* and *Mycobacterium tuberculosis* in an adult. **QJM Med.** 2014; 107:223–224.
57. HUANG C.T.; TSAI Y.J.; FAN J.Y. et al. Cryptococcosis and tuberculosis co-infection at a university hospital in Taiwan, 1993–2006. **Infect.** 2010; 38: 373.
58. HUFFNAGLE G.B.; CHEN G.H.; CURTIS J.L.; MCDONALD R.A.; STRIETER R.M.; TOEWS G.B.. Down-regulation of the afferent phase of T cell-mediated pulmonary inflammation and immunity by a high melanin-producing strain of *Cryptococcus neoformans*. **J. Immunol.** 1995; 155:3507–16.
59. JARVIS, J.N.; BICANIC, T.; LOYSE, A.; NAMARIKA D.; JACKSON A.; NUSSBAUM J.C. ; LONGLEY N.; MUZOORA C.; PHULUSA J.; TASEERA K.; KANYEMBE C.;

- WILSON D.; HOSSEINIPOUR M.C.; BROUWER A.E.; LIMMATHUROTSAKUL D.; WHITE N.; VAN DER HORST C.; WOOD R.; MEINTJES G.; BRADLEY J.; JAFFAR S.; HARRISON T. Determinants of Mortality in a Combined Cohort of 501 Patients With HIV-Associated Cryptococcal Meningitis: Implications for Improving Outcomes, **Clin. Infect. Dis.** 2014; 58, 5: 736–745.
60. JARVIS J.N.; HARRISON T.S.; CORBETT E.L.; WOOD R.; LAWN S.D. Is HIV-associated tuberculosis a risk factor for development of cryptococcal disease? **AIDS.** 2010; 24,4: 612–614.
61. KADJO K.; OUATTARA B.; ADOUBRYN K.D.; KRA O.; NIAMKEY E.K. Aspects actuels de la cryptococcose neuroméningée chez des sujets adultes infectés par le VIH dans le service de médecine interne du CHU de Treichville d'Abidjan (Côte d'Ivoire). **J. Mycol. Méd.** 2011; 21: 6 - 9.
62. KAKEYA H.; IZUMIKAWAK.; YAMADAK.; OBATA Y.; T NISHINO T. et al. Three cases of concurrent infection with Mycobacterium tuberculosis and Cryptococcus neoformans. **Int. Med.** 2014; 53: 1685-1692.
63. KATCHANOV J.; VON KLEIST M.; ARASTÉH K.; STOCKER H. . Time-to-amphotericin B' in cryptococcal meningitis in a European low-prevalence setting: analysis of diagnostic delays **QJM.** 2014; 107,10: 799-803.
64. KIM H.; JUNG K.; MAEG S.; CHEN Y.; SHIN J.; SHIM J.E.; HWANG1 S.; JANBON G.; KIM T.; HEITMAN J.; BAHN Y.; LEE I. Network-assisted genetic dissection of pathogenicity and drug resistance in the opportunistic human pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. **Scient. Rep.** 2015; 5: 8767.
65. KLOCK C.; CERSKI M.; GOLDANI L.Z. Histopathological Aspects of Neurocryptococcosis in HIV-Infected Patients: Autopsy Report of 45 Patients. **Int. Jour. Surg Pathol.** 2009; 17, 6: 444-448.
66. KOSUBOWSKI L.; HEITMANN J. Profiling a killer, the development of *Cryptococcus neoformans*. **FEMS. Microbiol Rev.** 2012; 36, 1: 78–94.
67. KRA O.; ABA Y.T.; YAO K.H.; OUATTARA B.; ABOUO F.; TANON K.A.; EHOLIE S.; BISSAGNENÉ E. Profil clinicobiologique, thérapeutique et évolutif des patients infectés par le VIH hospitalisés au service des maladies infectieuses et tropicales d'Abidjan (Côte d'Ivoire). **Bull. Soc. Pathol. Exot.** 2013; 106: 37- 42.
68. KWIZERA R.; NGUNA J., KIRAGGA A.; NAKAVUMA J.; RAJASINGHAM R.; BOULWARE D.R.; MEYA D.B. Performance of Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay Using Saliva in Ugandans with CD4 <100. **Plos One.** 2014; 9, 7: e103156.
69. LEAL A.L.; FAGANELLO J.; FUENTEFRÍA A.M.; BOLDO J.T.; BASSANESI M.C.; VAINSTEIN M.H.; Epidemiological profile of cryptococcal meningitis patients in Rio Grande do Sul, Brazil. **Mycopathologia.** 2008; 166: 71-5.
70. LIGHTOWLER J.V.J.; COOKE G.S.; MUTEVEDZI P.; LESSELLS R.J.; NEWELL M.; DEDICOAT M. Treatment of Cryptococcal Meningitis in KwaZulu-Natal, South Africa. **PLoS ONE.** 2010; 5, 1: e8630.
71. LIN X.; PATEL W.; LITVINTSEVA A.P.; FLOYD A.; MITCHELL T.G.; HEITMAN J. Diploids in the *Cryptococcus neoformans* Serotype A Population Homozygous for the a Mating Type Originate via Unisexual Mating. **PLoS Pathog.** 2009; 5, 1: e1000283.
72. LORTHOLARY O.; IMPROVIS L.; FITTING C.; CAVAILLON J.M. Influence of gender and age on course of infection and cytokine responses in mice with disseminated *Cryptococcus neoformans* infection. **Clin.microbiol.and Infect.** 2002;8,1:31-37.
73. MACHADO C.C.; AMARAL A.A.; SEVERO, L. *C. Cryptococcus neoformans var. neoformans* isolado do solo. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.** 1993; 35, 1: 77-79.
74. MANOSUTHI W.; ONGWANDEE S.; BHAKKEECHEEP S.; LEECHAWENGWONGS M.; RUXRUNGTHAM K.; PHANUPHAK P.; HIRANSUTHIKUL N.; RATANASUWAN

- W.; CHETCHOTISAKD P.; TANTISIRIWAT W.; KIERTIBURANAKUL S.; AVIHINGSANON A.; SUKKUL A.; ANEKTHANANON T.; A.A.C.T.N.HIV GUIDELINES WORKING GROUP. Guidelines for antiretroviral therapy in HIV-1 infected adults and adolescents 2014, Thailand. **AIDS Res. Therap.** 2015;12,12: 1-9.
75. MAZIARZ E.; PERFECT JR. Cryptococcosis. **Infect. Dis. Clin. Nor. Am.** 2016;30,1: 179-206.
76. MEZZARI A.; WLIBBELLING A.M.P.; FREITAS G.S.O., MAY G.G.; ALBÉ G.C.; FILIK H.P.; PORTICH J.P.; KISSMANN N.; BEHAR P.; VILELA R.M.M. Criptococose em um Hospital Público de Porto Alegre. **J. Infect. Control.** 2013; 2, 3:1-5.
77. MEZZARI A.; WLIBBELLING A.M.P.; WENCZENOVICZ C.; SOUZA C.D.A.; FREITAS G.S.O.; BARBOZA L.D.; PENA L.D.; KISSMANN N.; PORTICH J.P.; CARNEIRO L.C.; BEHAR P.R.P. Presença do *Cryptococcus* spp. nas excretas de pombos nos arredores de Hospitais de Porto Alegre. **Rev. Panam. Infectol.** 2014; 16, 3: 153-160.
78. MITCHELL T.G.; PERFECT J.R. Cryptococcosis in the Era of AIDS—100 Years after the Discovery of *Cryptococcus neoformans*. **Clin. Microbiol. Rev.** 1995: 515–548.
79. MOLLOY S.F.; KANYAMA C.; HEYDERMAN R.S.; A LOYSE A. et al. Antifungal combinations for treatment of cryptococcal meningitis in Africa. **New Engl. Med.** 2018; 378:1004-1017.
80. MOREIRA T.A.; FERREIRA M.S.; RIBAS R.M.; BORGES A.S. Criptococose: estudo clínico-epidemiológico, laboratorial e das variedades do fungo em 96 pacientes. **Rev Soc Bras Med Trop.** 2006; 39, 3: 255–258.
81. MOURAD A.; PERFECT, J.R. The war on cryptococcosis: A Review of the antifungal arsenal. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 2018; 113. 7: e170391.
82. NASCIMENTO E.; VITALI L.H.; TONANI L.; VON ZESKA KRESS M.R.; TAKAYANAGUI O.M.; MARTINEZ R. Refractory and/or Relapsing Cryptococcosis Associated with Acquired Immune Deficiency Syndrome: Clinical Features, Genotype, and Virulence Factors of *Cryptococcus* spp. Isolates **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 2016; 94,5: 975–981
83. NOGUERA M.C.; ESCANDÓN P.; CASTAÑEDA E. Cryptococcosis in Atlántico, Colombia: an approximation of the prevalence of this mycosis and the distribution of the etiological agent in the environment. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 2015; 48, 5: 580-586.
84. OLIVEIRA R.B.; ATOBE J.H.; SOUZA S. A.; SANTOS D. W.C. L. Epidemiology of Invasive Fungal Infection in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome at Reference Hospital for Infectious Disease in Brazil. **Mycopathol.** 2014; 178: 71-78.
85. OLSZEWSKI M.A.; NOVERR M.C.; CHEN G.H.; TOEWS G.B.; COX G.M.; PERFECT J.R.; , GB HUFFNAGLE G.B. Urease Expression by *Cryptococcus neoformans* Promotes Microvascular Sequestration, Thereby Enhancing Central Nervous System Invasion. **Am. J. Pathol.** 2004; 164: 1761 – 1771.
86. PERFECT J.R.; BICANIC T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now Fungal Genetics and Biology. 2015, 78: 49–54.
87. PERFECT J.R.; DISMUKES W.E.; DROMER F.; GOLDMAN D.L.; GRAYBILL J.R.; HAMILL R.J.; HARRISON T.H.; LARSEN R.A.; LORTHOLARY O.; NGUYEN M.; PAPPAS P.G.; POWDERLY W.G.; SINGH N.; SOBEL J.D.; SORRELL T.C. Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. Guidelines for Management of Cryptococcosis. **Clin. Infect. Dis.** 2010; 50: 291–322.
88. RAJASIGNHAM R.; SMITH R.M.; PARKB.J.; JARVIS J.N.; GOVENDER N.P. CHILLER T.M.; DENNING D.W.; LOYSE A.; BULWARE D.R. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. **The Lancet. Infect. Dis.** 2017; 17, 8: 873-881.
89. RHODES J.; DESJARDINS C.A.; SYKES S.M.; BEALE M.A.; VANHOVE M.; SAKTHIKUMAR S.; CHEN Y.; GUIIA S.; SAIF S.; CHOWDHARY A.; LAWSON D.J.;

- PONZIO V.; COLOMBO A.L.; MEYER W.; ENGELTHALER D.M.; HAGEN F.; ILLNAIT-ZARAGOZI M.T.; ALANIO A.; VREULINK J.; HEITMAN J.; PERFECT J.R.; LITVINTSEVA A.P.; BICANIC T.; HARRISON T.S.; FISHER M.C.; CUOMO C.A. Tracing Genetics Exchange and Biography of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* at the Global Population Level. **Genet.** 2017; 207, 1: 327-346.
90. ROACH K.C.; HEITMAN J. Unisexual Reproduction Reverses Muller's Ratchet. **Genetics.** 2014; 198: 1059–1069.
91. ROBERT R.; NAIL-BILLAUDA S.; CLÉMENTA N. Les tests de diagnostic rapide en mycologie médicale. **Rev. Francoph. Lab.** 2015; 474: 37- 44.
92. ROCHA D.F.S.; CRUZ K.S.; SANTOS C.S.D.S.; MENESCAL L.S.F.; NETO J.R.D.S.; et al. MLST reveals a clonal population structure for *Cryptococcus neoformans* molecular type VNI isolates from clinical sources in Amazonas, Northern-Brazil. **PLOS ONE** . 2018; 13, 6: e0197841
93. RODGER R.C.; TERRY L.L.; BINFORD C.H. Histoplasmosis, Cryptococcosis and Tuberculosis Complicating Hodgkin's Disease: Report of a Case. **Am. J. of Clin. Pathol.** 1951; 21, 2: 153–157.
94. RUTHERFORD J.C. The Emerging Role of Urease as a General Microbial Virulence Factor. **PLoS Pathog.** 2014; 10, 5: 1553-7366
95. SEVERO C. B. GAZZONI A.F.; SEVERO L.C. CURSO DE ATUALIZAÇÃO – MICOSES Capítulo 3 - Criptococose pulmonar. **J. Bras. Pneumol.** 2009; 35, 11: 1136-1144.
96. SHIMODA M.; SARAYA T.; TSUJIMOTO N.; KURAI O.; TAKIZAWA H.; GOTO H. Fatal disseminated cryptococcosis resembling miliary tuberculosis in a patient with HIV infection. **Int. Med.** 2014; 53, 15: 1641-1644.
97. SIDDIQI O.K.; GHEBREMICHAEL M.; DANG X.; ATADZHANOV M.; KAOGA P.; KHOURY M.N.; KORALNIK I.J. Molecular Diagnosis of Central Nervous System Opportunistic Infections in HIV- Infected Zambian Adults. **Clin. Infect. Dis.** 2014; 58, 12: 1771-1777.
98. SIDRIM J.J.C.; COSTA A.C.F.; CORDEIRO R.A.; BRILHANTE R.S.N.; MOURA F.E.A.; CASTELO-BRANCO D.S.C.M.; ARAÚJO NETO M.P.; GADELHA ROCHA M.F.G. Molecular methods for the diagnosis and characterization of *Cryptococcus*: a review. **Can. J. Microbiol.** 2010; 56: 445–458.
99. SIDRIM J.J.C.; ROCHA M.F.G. **Micologia Médica a Luz de Autores Contemporâneos.** Ed. Guanabara Koogan. RJ. 2012. p. 252-263.
100. SILVA JR. A.O.F.; GOLDANI L.Z. Neuroimaging Features of Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome in a Patient with AIDS Successfully Treated for Neurocryptococcosis. **Cas. Rep. Radiol.** 2013; 2013: 1-3.
101. SINGH U.; ADITI A.P.; KAPOOR B.K.; SINGH S.P.; PUREWAL S.S. Cryptococcal Meningitis Associated with Tuberculosis in HIV Infected Patients. **Indian J Tuberc.** 2013; 60: 180-183.
102. SPRINGER D.J.; BILLMYRE R.B.; FILLER E.E.; VOETZ K.; PURSALL.; MIECZKOWSKI P.A.; LARCEN R.A.; DIETRICH F.S.; MAY R.C.; FILLER S.G.; HEITMANN J. *Cryptococcus gattii* VGIII isolates causing infections in HIV/AIDS patients in Southern California: identification of the local environmental source as arboreal. **Plos Pathog.** 2014; 10.8: e1004285.
103. SRIKANTA D.; SANTIAGO-TIRADO F. H.; DOERING, T. L. *Cryptococcus neoformans* : historical curiosity to modern pathogen. **Yeast.** 2014; 31, 2: 47-60.
104. SOUMARÉ M.; SEYDI M.; NDOUR C.T.; DIENG Y.; DIOUF A.M.; DIOP B.M. Aspects actuels de la cryptococose neuro-meningee a Dakar. **Med. Trop.** 2005 65: 559-562.
105. TENFORDE M.W.; SCRIVEN J.E.; HARRISON T.S.; JARVIS J.N. Immune correlates of HIV-associated cryptococcal meningitis. **PLOS Pathog.** 2017: 1-8.

106. THAMMASITA P.; IADNUT A.; MAMOON K.; KHACHA-ANANDA S.; CHUPRADITE K.; TAYAPIWATANA C.; KASINRERKE W.; YINGMANEE TRAGOOLPUA Y.; TRAGOOLPUA K.; A potential of propolis on major virulence factors of *Cryptococcus neoformans*. **Microb. Pathog.** 2018; 123: 296–303.
107. THOMPSON III G.R.; ALBERT N.; HODGE C.G.; WILSON A. M. D.; SYKES D.J.E.; BAYS E.D.J.; FIRACATIVE A.C.; MEYER F.W.; KONTOYIANNISC F.D.P. Phenotypic Differences of *Cryptococcus* Molecular Types and Their Implications for Virulence in a *Drosophila* Model of Infection . **Infect. and Immun.** 2014; 82, 7: 3058 -3065.
108. TORRES R.G.; ETCHEBEHERE R.M.; ADAD S.J.; MICHELETTI A.R.; RIBEIRO B.M.; SILVA L.E.; et al. Cryptococcosis in acquired immunodeficiency syndrome patients clinically confirmed and/or diagnosed at necropsy in a teaching hospital in Brazil. **Am J Trop Med Hyg.** 2016; 95(4): 781-5.
109. TRILLES L.; LAZERA M.S.; WANKE B.; OLIVEIRA R.V.; BARBOSA G.G.; NISHIKAWA M.M.; MORALES B.P; MEYER W. Regional pattern of the molecular types of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** 2008; 103, 5: 455-62.
110. UNAIDS. JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS. UNAIDS. 2014. 90–90–90 **An Ambitious Treatment Target to Help End the AIDS Epidemic.** Geneva, Switzerland. <http://www.unaids.org/en/resources/documents/2014/90-90-90>. Acessado em 22/11/2018 as 1h e30 min.
111. UNAIDS. JOINT UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS. **UNAIDS Data 2018.** http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/unaid-data-2018_en.pdf. Acessado em 22/11/2018 a 1h e 42min.
112. VÁZQUEZ-GONZÁLEZ D.; PERUSQUÍA-ORTIZ A.M.; HUNDEIKER M.; BONIFAZ A. Opportunistic yeast infections: candidiasis, cryptococcosis, trichosporonosis and geotrichosis. **JDDG.** 2013; 11, 5: 381- 394.
113. VIDAL J.E.; BOULWARE D.R. Lateral flow assay for cryptococcal antigen: an important advance to improve the continuum of HIV care and reduce cryptococcal meningitis-related mortality. **Rev. Inst. Med.Trop.** 2015;57,19:38-45.
114. VIDAL J.E.; GERHARDT J.; PEIXOTO DE MIRANDA E.J.; DAUAR R.F.; OLIVEIRA FILHO G.S.; PENALVA DE OLIVEIRA A.C.; BOULWARE D.R. Role of quantitative CSF microscopy to predict culture status and outcome in HIV-associated cryptococcal meningitis in a Brazilian cohort. **Diag. Microbiol. Infect. Dis.** 2012; 73: 68–73.
115. WANG J.; BARTELT L.; YU D.; JOSHI A.; WEINBAUM B.; PIERSON T.; PATRIZIO M.; WARREN C.A.; HUGHES M.A.; DONOWITZ D. Primary Cutaneous Cryptococcosis Treated with Debridement and Fluconazole Monotherapy in an Immunosuppressed Patient: A Case Report and Review of the Literature. **Infect. Dis.** 2015:1-8.
116. WARPEHA K.M.; PARK Y.; WILLIAMSON P.W. Susceptibility of Intact Germinating *Arabidopsis thaliana* to Human Fungal Pathogens *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii*. **App. Envir. Microbiol.** 2013; 79, 9: 2979 –2988.
117. WILLCOCKS S.; WREN, BRENDAN W. Wren Shared characteristics between *Mycobacterium tuberculosis* and fungi contribute to virulence. **Fut. Microbiol.** 2014; 9, 5: 657–668.
118. WILLIAMSON P.R. The relentless march of cryptococcal meningitis. **The Lanc. Infect. Dis.** 2017; 17, 8: 790-791.
119. WHO - World Health Organization 2018. **Guidelines for the diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children: supplement to the 2016 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection.** Acessado em <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/cryptococcal-disease/en/> 25/11/2018 as 10h e 24min.

120. WHO - World Health Organization 2017. **Global Tuberculosis Report 2017**. Acessado em http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2017_main_text.pdf.25/11/2018 as 10h e 12min.
121. WOZNIAK K.L.; HARDISON S.; OLSZEWSKI M.; WORMLEY Jr. F.L. Induction of Protective Immunity Against Cryptococcosis. **Mycopathologia**. 2012; 173: 387–394.
122. YAMAMURA A.A.M.; FREIRE R.L.; YAMAMURA M.H.; FELIX A.; TARODA A. Estudo dos nichos ecológicos de leveduras patogênicas das espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* na cidade de Londrina, PR. **Semina C.A.L.** 2013; 34, 2: 793-804.
123. ZHAI B.; ZHU P.; FOYLE D.; UPADHYAY S.; IDNURM A.; LINA X. Congenic Strains of the Filamentous Form of *Cryptococcus neoformans* for Studies of Fungal Morphogenesis and Virulence. **Infect. Immun.** 2013; 81, 7: 2626-2637.

ARTIGO 01

Cryptococcosis and Tuberculosis Co-infection in a Regional Reference Service of HIV-AIDS from Southern Brazil

Article for submission to QJM: An International Journal of Medicine

Fator de Impacto: 3,204

Cryptococcosis and Tuberculosis Co-infection in a Regional Reference Service of HIV-AIDS from Southern Brazil

Lurdeti Bastos da Silva¹, Gabriel Baracy Klafke², Karine Ortiz Sanchotene¹, Pedro Eduardo Almeida da Silva^{1,2}, Rossana Patricia Basso^{1,2}, Jussara Maria Silveira², Melissa Orzechowski Xavier^{1,2,3}

¹ Post-Graduation Program in Health Science, Faculty of Medicine, Federal University of Rio Grande (FAMED-FURG), Rio Grande do Sul, Brazil. ² FAMED-FURG, RS, Brazil. ³ Post-Graduation Program in Parasitology, Federal University of Pelotas (UFPel), RS, Brazil.

*Correspondence address: Melissa Orzechowski Xavier. Visconde de Paranaguá, 102. CEP.:96203-900 – Rio Grande – RS, Brazil. E-mail: melissaxavierfurg@gmail.com

ABSTRACT

BACKGROUND Cr and TB are prevalent diseases in immunosuppressed patients and the co-infection Cr/TB may represent a new challenge in the panorama of the HIV-AIDS pandemic.

DESIGN: Retrospective analysis of hospital records.

AIM: Describe clinic-epidemiological data of cryptococcosis and tuberculosis (Cr/TB) co-infection in patients treated at the Regional Reference Service of HIV-AIDS of a hospital in southern Brazil.

METHODS: A retrospective study was conducted including all cases of coinfection during the period of three years.

RESULTS: The mean age of the ten patients diagnosed with Cr/TB was 39.3 years and 80% were male. CR meningitis and pulmonary TB occurred in 40% of cases, and the association of the pulmonary form in both Cr and TB in 30%. The other cases were pulmonary Cr and lymph node TB (n = 01), Cr meningitis and lymph node TB (n = 01), and cryptococcal and tuberculous meningitis (n = 01). The mean TCD4 + rate was 118.6 cel / mm³ (SD = 135.36), with 80% of patients maintaining TCD4 + <100 cells / mm³. The viral load presented by 70% of the patients was equal or higher than 100,000 copies / mm³. Four patients (40%) died on average 29 days (SD = 8.75) after diagnosis of coinfection.

CONCLUSION: A broad diagnostic investigation on the co-infection of Cr/TB/HIV-AIDS are required in immunosuppressed patients due to the similar clinical manifestation of both diseases.

KEYWORDS: *Cryptococcus neoformans*, *Mycobacterium tuberculosis*, immunosuppression.

INTRODUCTION

Cryptococcosis (Cr) and tuberculosis (TB) are infectious diseases potentially fatal to HIV-AIDS patients. Both are widely distributed around the world and their diagnosis is recognized as a defining condition for AIDS^{1,2,3}

Cryptococcus neoformans is the main etiologic agent of Cr in immunosuppressed patients. This systemic mycosis affects 6% to 10% of patients who develop AIDS. In 2014, the estimative was 223,000 new cases of Cr in HIV patients, resulting in a mortality of 181,000 people, accounting for 15% of all AIDS-related deaths globally^{4,5}. TB, caused by *Mycobacterium tuberculosis*, is considered by the World Health Organization (WHO) the most frequent HIV-AIDS infection, accounting for an estimated 920,000 new cases and 300,000 deaths in people living with HIV-AIDS in 2017^{6,7}.

In this context, such Cr as TB shows a high relevance in immunosuppressed patients and the coinfection Cr/TB in endemic regions may represent a new challenge in the panorama of the HIV-AIDS pandemic^{1,3,8,9,10}. Thus, this study aimed to describe the occurrence of all cases of Cr/TB coinfection in patients attending in the Regional Reference Service of HIV-AIDS of a hospital in southern Brazil in a period of three years.

METHODS

A retrospective study including all cases of coinfection by *C. neoformans* and *M. tuberculosis* diagnosed in HIV-AIDS patients at SAE-HU-FURG during the period January 2010 to December 2012 was performed. SAE-HU-FURG is implemented in the University Hospital (HU) of the Federal University of Rio Grande (FURG) since 1989, and covers 27 cities in the South Health Region of Rio Grande do Sul (RS). HU-FURG is located in the city of Rio Grande, RS, Brazil. This hospital carries out clinical follow-up of about 1300 HIV-AIDS patients/year.

The project was approved by Health Research Ethics Committee of the FURG, under the number 1,091,685/2015. Data were obtained from the electronic medical records of SAE-HU-FURG, Medical and Statistical Archive Service (SAME), Logistic Control Service (HU-FURG) and the records of the FAMED-FURG Mycology Laboratory, the HU-FURG Clinical Analysis Laboratory and the FAMED-FURG Mycobacteriology Laboratory.

Co-infected HIV-AIDS patients with *C. neoformans* and *M. tuberculosis* were considered those with concomitant diagnosis of Cr and TB, and those diagnosed with TB within six months prior to, or two months after, the diagnosis of Cr¹. According to the period of diagnosis of Cr and TB, coinfection was classified concomitantly, when the diagnosis

occurred simultaneously, or sequential, when the diagnosis of one of the diseases preceded another one within the pre-established cutoff period^{1,8}.

Cases of Cr were those patients with titers above 1:8 in serum or cerebrospinal fluid (CSF) in the latex agglutination test for cryptococcal antigen (Cryptococcal Antigen Latex Agglutination System-CALAS[®]); and / or those with isolation of *Cryptococcus* sp. in mycological culture of clinical samples such as CSF, bronchoalveolar lavage (BAL), pleural fluid (PF) and / or hemoculture. Subsequent identification of the fungal species was performed by sub-culture on Canavanine-Glycine-Bromothymol Blue (CGB)^{5,11}.

We considered TB cases those diagnosed by microscopy with Ziehl Neelsen and / or liquid culture on BACTEC[™] MGIT[™] 320 (BD - Becton, Dickinson and Company), with confirmation of *M. tuberculosis* by PCR-IS-6110^{6,7}.

Data evaluated were sex, age, clinical presentation of Cr and TB, rates of CD4 + and viral load (at the time of diagnosis of Cr and / or TB), cytokines (leukocytes / mm³) of patients with central nervous system commitment, use of Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) at the time of diagnosis, hospitalization period, treatment and outcome (cure or death).

Cr clinical presentations were classified as disseminated in patients with positive blood culture or fungal isolation in clinical samples from two or more non-contiguous sites; as neurocryptococcosis in patients with titer $\geq 1: 8$ in CSF, direct examination and / or positive culture of CSF; and as pulmonary cryptococcosis when a positive culture occurs only in BAL or PF sample with CSF examination and negative serology^{5,12,13}. Regarding the clinical presentations of TB, the criteria for classification in disseminated TB were positive blood culture and / or lung injury associated with an extrapulmonary disease or findings of two or more concomitant extrapulmonary lesions; for lymph node TB was the isolation of *M. tuberculosis* on excisional or aspirated lymph node biopsy; for tuberculous meningitis was the pathogen isolation from the CSF; and for pulmonary TB was considered positive smear microscopy and / or positive culture of sputum, BAL or PF⁷.

Data were described and frequency analyzes were performed using statistical program SPSS 19.0.

RESULTS

During the three years of the study, ten cases of Cr/TB coinfection were detected in HIV/AIDS patients in SAE-HU-FURG. The mean age of the patients was 39.3 years (28-56) (Standard Deviation = 9.5) and 80% were male.

In all of the ten cases, Cr was diagnosed by mycological culture, allowing the isolation and identification of *C. neoformans* from CSF samples, in six patients, and respiratory samples, in four. These six patients with positive CSF cultures, classified as neurocryptococcosis, presented titers ≥ 512 of capsular cryptococcal antigen in serum and/or CSF, of which 83% had a titer ≥ 1024 (05/06). The others four patients were classified as pulmonary Cr, presenting positive culture in BAL (n=03) and PF (n=01). The patients with pulmonary clinical presentation of Cr, were also investigated for CNS involvement showing negatives results in culture and cryptococcal antigen from CSF samples. Antigenemia was investigated in two of the four cases being negative in both.

Regard to TB, in six patients, the diagnosis was defined by positive microscopy associated with liquid culture with confirmation of *M. tuberculosis* by PCR-IS-6110, from BAL (n=02), lymph node (n=02), CSF (n=01) and sputum (n=01) samples. In the others four cases, microscopy, from BAL (n=03) and sputum (n=01), was the diagnostic method. Pulmonary TB was the predominant clinical presentation (70%), followed by two cases of lymph node TB and one of tuberculous meningitis.

Neurocryptococcosis associated with pulmonary TB occurred in four cases, and the pulmonary presentation of both diseases in three. The other co-infections were pulmonary Cr and lymph node TB, neurocryptococcosis and lymph node TB, and cryptococcal and tuberculous meningitis. Concomitant diagnosis was found in 40% of cases. In other 40%, TB preceded the diagnosis of Cr, in average 4 months (120.5 days) (SD = 55.6) and in two cases, Cr preceded the diagnosis of TB, in average 31 days (SD = 24.04) (Table 1).

Cr and / or TB presented as defining condition for AIDS in five patients. Four patients, with HIV-AIDS diagnosis prior to Cr/TB coinfection, were non-adherent (n=2), abandoned (n=1) or used irregular HAART (n=1). The mean rate of TCD4⁺ was 118.6 cel / mm³ (SD = 135.36), with 80% of patients presenting values lower than 100 cells / mm³, and 70% with viral load ≥ 100.000 copies / mm³. Besides, only one patient had satisfactory adherence to HAART, with undetectable viral load and TCD4⁺ levels >200 cells / mm³ at the diagnosis of the coinfection. All patients remained on average 34.2 days (SD = 18.26) hospitalized for treatment, and four (40%) died, on average 29 days (SD = 8.75) after diagnosis of coinfection (Table 1).

DISCUSSION

Although both Cr and TB are opportunistic diseases of high incidence in HIV-AIDS patients, the description of the triple Cr/TB/HIV-AIDS infection is scarce. In fact, it is mainly composed by reports or by series with few cases described in a long period of study^{1,8,9,14,15}.

A systematic review of Cr/TB coinfection in China including 56 studies (1965-2016), allowed to survey 197 cases and to show an average incidence of this coinfection of 5.4% to 26.7% of all the patients diagnosed with Cr, and 0.6% to 9.7% of all tuberculosis cases. More than half of the cases included in this review were described between the years 2010 and 2015, representing a mean of 18.5 cases / year in all the country ³. Thus, our data deserves attention since highlights a great number of cases in a short period of time, corresponding to a mean of 3.3 cases of this coinfection / year only in a single hospital in southern Brazil. In addition, our study also showed that the occurrence of Cr/TB coinfection cases corresponded to 34.5% of patients diagnosed with Cr in the same period, in SAE-HU-FURG. This value surpasses the data from the above study, whose country (China) holds 63% of Cr/TB cases reported worldwide³.

Brazil is among the 30 countries with the highest rates of TB and TB / HIV coinfection, whose number of deaths was approximately 1900 coinfecting people in the year 2016 ⁶. According to Brazil's Epidemiological Bulletin (2018), the Southern region, where the study was developed, is the second in the national HIV-AIDS detection ranking¹⁶. In addition, Brazil is one of the Latin American countries with the highest incidence of Cr / HIV-AIDS coinfection cases (1000-2500 reported cases), with lethality rate between 12% to 77% ^{17,18}. However, the national scientific literature is scarce in relation to Cr/TB/HIV-AIDS coinfection, with only few reports in the State of São Paulo¹⁴, Rio de Janeiro⁹ and now our data in Rio Grande do Sul.

The mean age and the prevalence of cases in male patients found in our study are in accordance with the literature^{1,8}. Probably it is associated with groups at risk for HIV infection and AIDS, which is responsible for the immunosuppression necessary for the development of opportunistic diseases such as Cr and TB ^{1,3,8,10}. However, there is a possibility of female hormones be an important defense against Cr observed from an experimental study with mice, whose infected females with *C. neoformans* produced higher levels of cytokines in plasma and higher levels of TNF (tumor necrosis factor)- α and TNF- γ in spleen and blood, which was not observed in males¹⁹.

Most of the Cr/TB coinfection cases described in the study occurred sequentially. Nevertheless, the association between HIV-induced CD4 + lymphocytopenia favors the onset of Cr and TB. Some authors have suggested that TB may be an independent risk factor for the development of Cr because it causes suppression of innate immunity. In the same hand, it is hypothesis that Cr predisposes patients to reactivation of TB by inhibiting the production of TNF- α ^{20,21,22}.

According to the clinical profile of coinfection already described in the literature, it can be affirmed that triple Cr/TB/HIV-AIDS coinfection has mutual deleterious effects that aggravate the disease process and significantly increase the risk of lethality^{21,22,23}. In agreement, 80% of the patients studied showed CD4+ T cell count <100 cells/ μ l and 75% of the patients presented viral load >100.000cel/mm³, which is the strongest predictor of HIV-related complications, including opportunist infections as Cr and TB^{3,15}. Included in this context of poor prognosis, is the high infective fungal load observed in latex titer reading \geq 1:1024, presented by more than 80% of patients^{9,10,12,15}. Although 50% of the patients studied were cured, the number of deaths (42%) was higher in comparison to reports by Fang et al. (2017) and represents an important lethality rate.

The first report of the coinfection Cr/TB dates from 1951 in the United States of America (USA)²⁴. However, although there has been an increase in its casuistic with the advent of the HIV-AIDS pandemic, even today, this coinfection remains severely underestimated^{3,8,15}. Singh et al. (2013) emphasizes that the overlapping of symptoms in Cr/TB coinfection hinders clinical suspicion and culminates with delayed diagnosis, which, together with the risk factors of the host, generates the worst prognosis¹⁵. In conclusion, this study revealed a series of ten cases of Cr/TB coinfection in HIV-AIDS patients in only three years, emphasizing the need for a broad diagnostic investigation in immunosuppressed patients and rising clinical awareness of this condition among clinicians and other health professionals from the Southern region of Brazil.

REFERENCES

1. Chen M, Al-Hatmi AM, Chen Y, Ying Y, Fang W, Xu J, et al. Cryptococcosis and tuberculosis co-infection in mainland China. *Emerg. Microb. & Infect.* 2016; 5: 1-3.
2. Luo B, Sun J, Cai R, Shen Y, Liu L, Wang J, et al. Spectrum of Opportunistic Infections and Risk Factors for In-Hospital Mortality of Admitted AIDS Patients in Shanghai. *Med.* 2016; 95: e2302-e3802.
3. Fang W, Zhang L, Liu J, Denning DW, Hagen F, Jiang W, et al. Tuberculosis/cryptococcosis co-infection in China between 1965 and 2016. *Emerg. Microb. & Infect.* 2017; 6: e73:1-7.
4. Rajasigham R, Smith RM, Park BJ, Jarvis JN, Govender NP, Chiller TM, et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *The Lancet. Infect. Dis.* 2017; 17: 873-881.
5. WHO - World Health Organization 2018. Guidelines for the diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children: supplement to the 2016 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Accessed in <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/cryptococcal-disease/en/> 11/25/18.

6. WHO - World Health Organization 2017. Global Tuberculosis Report 2017. Accessed in http://www.who.int/tb/publications/global_report/gtbr2017_main_text.pdf. 11/25/18.
7. Lewinsohn DM, Leonard MK, LoBue PA, Cohn DL, Daley CL, Ed Desmond, et al. IDSA Guideline. Official American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children. *Clin.Infect. Dis.*, 2017; 64: e1-e33.
8. Huang CT, Tsai YJ, Fan JY, Ku SC, Yu CJ. Cryptococcosis and tuberculosis coinfection at a University hospital in Taiwan, 1993-2006. *Infect.* 2010; 38:373-379
9. Escada ROS, Velasque L, Ribeiros R, Cardoso SW, Marins LMS, Grinsztejn E, et al. *BMC Infect. Dis.* 2017; 17, 373: 1-10.
10. Caceres DH, Tobón ÁM, Restrepo Á, Chiller T, Gómez LB. The important role of co-infections in patients with AIDS and progressive disseminated histoplasmosis (PDH): A cohort from Colombia. *Med. Mycol.* 2018; 19: 41–44.
11. Perfect JR, Bicanic T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now *Fungal Genetics and Biology.* 2015, 78: 49–54.
12. 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. Guidelines for Management of Cryptococcosis. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 50: 291–322.
13. Nabaei G, Afhami S. Disseminated cryptococcosis and active pulmonary tuberculosis co-infection in an otherwise healthy adult. G Nabaei, S Afhami - *Iranian journal of neurology*, 2015; 14, 3: 174-176.
14. Gutierrez EB, Zanetta DMT, Saldiva PNH, Capelozzi VL. Autopsy-proven determinants of death in HIV-infected patients treated for pulmonary tuberculosis in Sao Paulo, Brazil. *Pathol. Res. Pract.* 2002; 198: 339–346.
15. Singh U, Aditi AP, Kapoor BK, Singh SP, Purewal SS. Cryptococcal Meningitis Associated with Tuberculosis in HIV Infected Patients. *Indian J Tuberc.* 2013; 60: 180-183.
16. Brazil. Ministry of Health. Brazil's Epidemiological Bulletin of HIV/AIDS, 2018. Brasília. Federal District. 2018; 49:58-63.
17. Trilles L, Lazera MS, 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; 103: 455-62.
18. Firacative C, Lizarazo J.; Illnait-Zaragozı M.T.; Castañeda E. The status of cryptococcosis in Latin America. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* . 2018;113: 1-23.
19. Lortholary O, Improvis L, C fitting C, Cavaillon J.M. Influence of gender and age on course of infection and cytokine responses in mice with disseminated *Cryptococcus neoformans* infection. *Clin.microbiol.and Infect.* 2002; 8: 31-37.
20. Bottasso O, Bay M.L, Besedovsky H, Del Rey A. Immunoendocrine alterations during human tuberculosis as an integrated view of disease pathology. *Neuroimmun.* 2009; 16: 68–77.

21. Jarvis JN, Harrison S, Corbett EL, Wood R, Lawn SD. Is HIV-associated tuberculosis a risk factor for development of cryptococcal disease? *AIDS*. 2010; 24: 612–614.
22. Willcocks S, Wren BW. Shared characteristics between *Mycobacterium tuberculosis* and fungi contribute to virulence *Fut. Microbiol.* 2014; 9: 657–668.
23. Tenforde MW, Scriven JE, Harrison TS, Jarvis JN. Immune correlates of HIV-associated cryptococcal meningitis. *PLOS Pathog.* 2017; 13: 1-8.
24. Rodger RC, Terry LL, Binford CH. Histoplasmosis, Cryptococcosis and Tuberculosis Complicating Hodgkin's Disease: Report of a Case. *Am. J. of Clin. Pathol.* 1951; 21: 153–157.

Table 1: Clinic-epidemiological and laboratory data of patients (n = 10) diagnosed with cryptococcosis and tuberculosis co-infection at a Regional Reference Service of HIV / AIDS from Southern Brazil over a period of three years.

Clinical Data	Clinical Forms of Coinfection **				
	CM + PTB (n=04)	PC + PTB (n=03)	CM + LTB (n=01)	CM +TBM (n=01)	PC +LTB (n=01)
Signs and Symptoms					
Fever (n=07)	75% (3/4)	67% (2/3)	100%	0	100%
Nausea/Vomiting (n=4)	50% (2/4)	33% (1/3)	0	100%	0
Cough / dyspnea (n=6)	100% (4/4)	67% (2/3)	0	0	0
Headache (n=6)	75% (3/4)	0	100%	100%	100%
Sensory deficit (n=5)	50% (2/4)	67% (2/3)	100%	0	0
Motor deficit (n=2)	0	0	0	100%	100%
Visual impairment (n=2)	0	0	100%	100%	0
Laboratory Data					
TCD4 + mean (cells / mm ³)	50.5 (SD=38.5)	105 (SD=124.3)	76	146	447
Average Viral Load (copies)	367,758 (SD=186,007)	109,867 (SD=1,310)	184,149	606	20,898
Mean cytotokine (cells / mm ³)	3	NR	NR	2	NR
Diagnosis of Coinfection Cr/TB					
Concomitant (n=04)	25% (1/4)	33% (1/3)	0	100%	100%
Sequential with previous TB (n=04)	50% (2/4)	33% (1/3)	100%	0	0
Sequential with previous Cr (n=02)	25% (1/4)	33% (1/3)	0	0	0
Treatment of Coinfection Cr/TB/HIV-AIDS					
HAART (n=02)	0	33% (1/3)	100%	0	0
Anti-TB therapy (n=10)	100% (4/4)	100% (3/3)	100%	100%	100%
Antifungal therapy (n=9)	100% (4/4)	67% (2/3)	100%	100%	100%
Length of Hospital Stay					
Average days	29 (SD=20.3)	40 (SD=21.9)	49	41	16
Outcome					
Death (n=4)	50% (2/4)	67% (2/3)	0	0	0
Cure (n=5)	50% (2/4)	0	100%	100%	100%
No registry* (n=1)	0	33% (1/3)	0	0	0

CM criptococcal meningitis; PTB pulmonary tuberculosis; PC: pulmonary cryptococcosis; LTB lymph node TB; TBM tuberculous meningitis
NR unperformed

*patient transferred to another hospital.

**the variables results of coinfection Cr/TB could not be used in a statistical analysis due to the small sample size of the groups.

ARTIGO 02**Criptococose em Pacientes HIV-AIDS no Sul do Brasil**

Artigo a ser submetido a Revista “Memórias do Instituto Oswaldo Cruz”

Fator de Impacto: 2,833

Criptococose em Pacientes HIV-AIDS no Sul do Brasil

Título Resumido: Criptococose no Sul do Brasil

Lurdeti Bastos da Silva^{1,2}, Douglas Bock¹, Gabriel Baracy Klafke¹, Karine Ortiz Sanchotene^{1,2},
Rossana Patricia Basso², Melissa Orzechowski Xavier^{1,2}

¹ Laboratório de Micologia da Faculdade de Medicina (FAMED), Universidade Federal de Rio Grande (FURG), Rio Grande do Sul, Brasil. ² Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS- FAMED-FURG), Rio Grande do Sul, Brasil.

* Autor para correspondência: Melissa Orzechowski Xavier. Rua: Visconde de Paranaguá, 102 – Centro. 96203-900 – Rio Grande – RS, Brasil. E-mail: melissaxavierfurg@gmail.com

RESUMO

Introdução: O estudo teve como objetivo traçar o perfil clínico-epidemiológico da criptococose (Cr) em pacientes de um Serviço de Referência HIV-AIDS do extremo sul do Brasil. **Material e Métodos:** Trata-se de estudo retrospectivo avaliando dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais de todos os casos de Cr diagnosticados por isolamento fúngico ou detecção de antígeno criptocócico no Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio Grande (HU-FURG) no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2016. **Resultados:** O estudo evidenciou 70 casos de Cr, cujo *C. neoformans* foi o agente etiológico na totalidade dos casos em que o cultivo foi solicitado (n=44). A maioria dos pacientes (74,3%) eram do sexo masculino e a idade média foi de 39,9 anos (variando de 20 a 78). Neurocriptococose foi a principal apresentação clínica (84,3%), e a Cr foi condição definidora da AIDS em 40% dos pacientes. Taxa de TCD4 <100cel/mm³ foi encontrada em 80% dos pacientes, assim como carga viral ≥50.000 cópias/mm³ em cerca de 75% dos casos. Mais da metade dos pacientes evoluiu para óbito (52,9%) e, para estes pacientes cuja doença foi fatal, a expectativa de vida foi em média de 81,8 dias, a partir do primodiagnóstico da doença. O estudo evidenciou a relevância da Cr em pacientes HIV-AIDS, do HIV-AIDS, revelando a grave condição de imunossupressão dos pacientes coinfectados e alta taxa de letalidade. Assim, se faz necessário investimentos mais amplos para a otimização do diagnóstico, tanto do HIV-AIDS, quanto da Cr na região estudada.

Palavras-chave: *Cryptococcus neoformans*, epidemiologia, infecções oportunistas relacionadas ao HIV-AIDS

INTRODUÇÃO

A Criptococose (Cr) é uma das principais micoses oportunistas em pacientes imunossuprimidos, destacando-se como grupo de risco pacientes HIV-AIDS. Meningite por *Cryptococcus neoformans* é responsável por 15% das mortes relacionadas a AIDS, atingindo uma estimativa global de 181.100 óbitos/ano em pessoas vivendo com AIDS. Ainda em âmbito mundial, 6% dos pacientes com contagem de $TCD4^+ < 100$ células/mm³ apresentam antigenemia criptocócica (CrAg), representando uma incidência estimada de 223.100 casos de meningite criptocócica/ano¹⁸

A América Latina ocupa o terceiro lugar em relação a incidência da criptococose relacionada a AIDS, com uma estimativa de 5.300 casos/ano correspondendo a 2.400 óbitos/ano¹⁸. No Brasil, a maioria dos casos de Cr relacionada ao HIV-AIDS encontram-se na Região Sudeste e Sul, demonstrando taxa de incidência de 36 casos de Cr a cada 100 hospitalizações de paciente HIV/AIDS /ano^{11,15,20,22}.

A cidade do Rio Grande, localizada no sul do estado do Rio Grande do Sul, ocupa o primeiro lugar no ranking nacional de taxas de detecção do HIV/AIDS entre os municípios com uma população maior que 100.000 habitantes³. Considerando a importância da criptococose como doença oportunista nestes pacientes, o estudo objetivou avaliar sua ocorrência, etiologia e perfil clínico-epidemiológico em um serviço de referência para pacientes HIV-AIDS da região Sul do RS, Brasil, durante um período de sete anos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado estudo retrospectivo incluindo todos os casos de criptococose diagnosticados em pacientes HIV-AIDS no Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio Grande (HU-FURG), RS, Brasil, durante o período de Janeiro de 2010 a Dezembro de 2016. O Serviço de Referência em HIV-AIDS (SAE) foi implementado no HU-FURG e segue em funcionamento desde 1989. Este Serviço de Referência Regional abrange 27 cidades da

Macrorregião Sul de Saúde, com um número de 1.356 usuários em acompanhamento terapêutico para HIV/AIDS no ano de 2016.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da instituição (CEPAS_FURG Parecer nº 1.091.685), e os dados foram obtidos dos prontuários eletrônicos do SAE e bancos laboratoriais, Serviço de Arquivo Médico e Estatístico (SAME) e Serviço de Controle Logístico de Medicamentos (histórico de dispensação HU-FURG).

Foram considerados casos de Cr os pacientes com titulação acima de 1:8 em soro ou LCR no teste de aglutinação do látex (*Cryptococcal Antigen Latex Agglutination System* (CALAS ®) para detecção de antígeno criptocócico (CrAg); e/ou aqueles com isolamento de *Cryptococcus* sp. em cultivo micológico de amostras clínicas como: líquido cefalorraquidiano (LCR), lavado broncoalveolar (LBA), líquido pleural (LP) e/ou em hemocultura.

A doença foi classificada como Cr disseminada em pacientes com hemocultura positiva ou isolamento fúngico em amostras clínicas de dois ou mais sítios não contíguos; como neurocriptococose em pacientes com título de CrAg $\geq 1:8$ no LCR, e/ou com detecção de *Cryptococcus* sp. em exame direto e/ou cultivo de LCR; ou como Cr pulmonar em pacientes com isolamento de *Cryptococcus* sp. em cultivo de LBA ou LP, e CrAg sérico e líquórico negativo^{16,17,24}.

As variáveis estudadas foram: sexo, idade, município de residência, período de internação, manifestação clínica da doença, comorbidades (somente as com comprovação diagnóstica laboratorial), taxas de TCD4⁺ e carga viral, citorraquia (leucócitos/mm³), uso da terapia antirretroviral (TARV) no momento do diagnóstico, terapia antifúngica prescrita e desfecho (alta ou óbito). Os casos de Cr com diagnóstico precedente ou simultâneo ao diagnóstico de HIV/AIDS foram considerados como condição definidora de HIV/AIDS.

Os dados foram duplamente digitados em programa Epi-Info e foram realizadas análises descritivas, e teste exato de Fisher para avaliar a relação entre desfecho e fatores de

mau prognóstico, utilizando o programa estatístico SPSS 19.0 e considerando um grau de significância de 95%.

RESULTADOS

No período de sete anos do estudo 70 casos de Cr foram diagnosticados em pacientes HIV/AIDS no HU-FURG, mantendo uma média de 10 casos diagnosticados por ano, oscilando sua distribuição ao longo do período estudado (Figura 01). A maioria dos pacientes era do sexo masculino (74,3%), residente no município do Rio Grande (72,8%) e com idade média de 39,9 anos (variando de 20 a 78). *C. neoformans* foi o agente etiológico identificado na totalidade dos casos em que o cultivo foi realizado (n=44).

A Cr foi condição definidora da AIDS em 40% (n=28/70) dos pacientes, e em mais da metade dos casos (60%) a taxa de TCD4 foi <100 cel/mm³ e a carga viral ≥ 50.000 cópias/mm³ (75%). A maioria dos pacientes (75,7%) não fazia uso da TARV no período antecedente ao diagnóstico da Cr, sendo que 70% destes eram virgens de TARV e 30% abandonaram ou não aderiram ao tratamento do HIV/AIDS. Neurocriptococose representou 84,3% (n=59) dos casos, e os principais sinais/sintomas foram cefaléia (n=43/70) e febre (n=37/70) (Tabela 1).

A detecção de CrAg ocorreu em 92,5% (n=62/67) dos pacientes avaliados, com mais de 65% destes apresentando título $\geq 1:1024$. O cultivo micológico apresentou 100% (44/44) de positividade, sendo isoladamente o método definidor do diagnóstico em 08 pacientes, 5 casos de Cr pulmonar, 2 casos de Cr disseminada e 01 caso de neurocriptococose. A figura 2 destaca os métodos utilizados para diagnóstico definitivo da doença nos 70 casos estudados.

Quanto a terapia antifúngica, cumpriram o tratamento de eleição com Anfotericina B desoxicolato somada a profilaxia secundária com Fluconazol 52,9% (n=37) dos pacientes. Os demais (n=24) realizaram tratamento somente com Anfotericina B ou receberam monoterapia com Fluconazol (n=3). Apenas um paciente recebeu AnfoB+Fluconazol+Flucitocina, e um foi tratado com AnfoB+Itraconazol. Houveram 5,7% (4/70) dos pacientes sem tratamento, dentre

os quais evoluíram a óbito 50% (2/4), dentre os quais, dois óbitos de paciente com neurocriptococose e os sobreviventes foram os pacientes com Cr pulmonar.

O período de internação para tratamento da Cr foi em média de 39,4 dias (DP=31,3), e mais da metade dos pacientes (52,9%) dos pacientes evoluíram para óbito após em média 81,8 dias (2-930) do primodiagnóstico da doença. Trinta pacientes (43%) apresentavam comorbidades, destacando-se tuberculose (TB) (n=11), sífilis (n=10) e hepatites (n=9). Dentre os quais, foram evidenciados dois pacientes com coinfeção por TB e Hepatite C, dois por TB e sífilis e um caso de coinfeção por sífilis/Hepatite C.

Dentre os fatores de mau prognóstico avaliados a presença de comorbidades foi o único fator significativamente associado ao desfecho óbito ($p=0,04$).

DISCUSSÃO

A criptococose tem sido considerada como uma das principais doenças oportunistas em pacientes HIV-AIDS há décadas, atingindo altos índices de morbimortalidade nessa população desde o início da pandemia da AIDS^{18,24}. Apesar dos esforços que tem sido propostos a partir de *guidelines* de prevenção e manejo essa micose ainda segue impactando na sobrevivência dos pacientes e sendo utilizada inclusive como um balizador do contexto de controle no avanço da epidemia da AIDS¹⁸. Ao encontro desse dado, os resultados do estudo revelam uma mortalidade acima de 50% nos casos estudados em um hospital terciário no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. De fato, esse hospital atende uma região com altos índices de infecção pelo vírus HIV, se destacando nacionalmente como o primeiro no ranking de município com população superior a 100.000 habitantes em taxas de detecção do HIV-AIDS, localizado no Estado que detém o segundo lugar no ranking nacional de maior casuística do HIV-AIDS³.

A espécie *C. neoformans* evidenciada em 100% dos casos avaliados por cultivo é o agente etiológico associado a Cr em pacientes imunossuprimidos em âmbito mundial, sendo de distribuição cosmopolita, e também evidenciada nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (TRILLES et al.; 2008). Estudos demonstram uma possível interação sinérgica entre o vírus HIV e *C.*

neoformans, baseada na degradação das células de resposta inflamatória do sistema imunológico do hospedeiro, causada pelos vírus, contribuir para a disseminação da infecção criptocócica, enquanto que *C. neoformans*, reciprocamente, é capaz de induzir e acelerar a replicação do RNA viral favorecendo a progressão da AIDS^{4,5,6,19}.

A média de idade e os principais sinais e sintomas encontrados em nosso estudo estão de acordo com os descritos na literatura^{2,11,14,16}. Assim como a predominância do sexo masculino, que geralmente está relacionada a maior prevalência da infecção pelo HIV²⁴. No entanto, Lortholary et al. (2002) sugere, a partir de estudo em modelo murino, um efeito protetor do 17 β estradiol e da progesterona à infecção por *C. neoformans*, resultando na produção de maiores níveis de citocinas, TNF- α e IFN- γ em fêmeas infectadas com *C. neoformans* em comparação com machos¹² (LORTHOLARY et al., 2002), permanecendo em aberto essa hipótese para comprovação.

Estudo realizado no Instituto de Doenças Infecciosas Emilio Ribas, em São Paulo, que evidenciou a Cr como principal causa de morte por infecção oportunística em pacientes HIV-AIDS, demonstrou a predominância da neurocriptococose, representando 80% dos casos²². A neurocriptococose, também encontrada em mais de 80% dos pacientes de nosso estudo, corresponde a forma clínica mais frequentemente diagnosticada da doença, e embora seja subaguda e de evolução lenta, é considerada a forma mais grave, tardia e potencialmente letal^{13,14}.

A maioria dos pacientes do HU-FURG apresentavam características de mau prognóstico na Cr como taxas de TCD4⁺ <100 cels/mm³, carga viral >50.000 cópias, leucócitos <20cels/mm³ no LCR e alta carga fúngica comprovada pelo título >1:1024. Em adição, em 40% a Cr foi doença definidora de AIDS, 43% dos pacientes apresentavam outras doenças oportunistas associadas, e 75% não estavam em uso de TARV. Estas características são reconhecidas como fatores de impacto para a letalidade, relacionados diretamente ao diagnóstico tardio do HIV-AIDS e a baixa suspeição clínica da coinfeção com consequente

morosidade do diagnóstico da Cr e retardo do tratamento antifúngico^{1,8,10,15,22}. De fato, a evidência de comorbidades, em especial a tuberculose, teve relação significativa com o desfecho, e mais da metade dos pacientes do nosso estudo evoluíram a óbito, estando entre os valores mais altos com relação a estimativa nacional de letalidade, calculada a partir dos registros de estudos regionais dos Serviços de Assistência Especializada distribuídos pelo país, reunidos na metanálise de Firacative et al. (2018), cujos percentuais oscilam entre 12% e 77%⁷.

Nos últimos anos, encontra-se comercialmente disponível teste rápido de alta sensibilidade e especificidade para detecção da Cr em pacientes HIV-AIDS, e, no sentido de reduzir a letalidade da doença a partir da precocidade diagnóstica, preconiza-se que todos os pacientes com $TCD4^+ < 100$ cels/mm³ sejam rastreados para antigenemia criptocócica, sendo tratados empiricamente em caso de CrAg sérico positivo²¹. No entanto, este método diagnóstico não é utilizado no HU-FURG, e a conduta de rastreamento também não estava sendo realizada no período do estudo em nosso hospital.

Atualmente, o “padrão ouro” de tratamento para criptococose trata-se de associação entre Anfotericina B e 5fluorocitosina (5FC), a qual é capaz de garantir ação fungicida mais rápida e maior chance de sobrevida^{17,23,24}. Embora o tratamento com AnfoB tenha sido utilizado em 87% dos pacientes estudados, conforme preconizado pela WHO, 2018, a 5FC não está disponível para uso no hospital estudado, assim como na maioria dos hospitais públicos e centros de referência HIV/AIDS no Brasil³.

O estudo evidenciou a importância da criptococose como doença definidora de AIDS e de alta letalidade em pacientes no sul do Brasil, ressaltando a necessidade de maiores investimentos no sentido de ampliar o acesso a testes diagnósticos rápidos que culminam em precocidade diagnóstica e otimização do diagnóstico, tanto do HIV-AIDS quanto da Cr. Bem como a melhoria no acesso a fármacos de eleição como a 5FC, para maior eficácia no

tratamento e conseqüentemente melhor prognóstico do paciente, minimizando o impacto dessa micose como doença oportunista e causa de morte nos pacientes HIV-AIDS do sul do Brasil.

REFERÊNCIAS

1. Antinori S. New Insights into HIV/AIDS-Associated Cryptococcosis. *Isrn Aids* 2013; 2013: 1-22.
2. Azambuja AZ, Wissmann Neto G, Watte G, Antonioli L, Goldani LZ. Cryptococcal Meningitis: A Retrospective Cohort of a Brazilian Reference Hospital in the Post-HAART Era of Universal Access. *Can. J. of Infect. Dis. Med. Microbiol.* 2018; 2018: 1-5.
3. Brasil 2018. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico - HIV Aids Julho de 2017 a junho de 2018. Brasília. DF.. Publicado em 27/11/2018. 2018; 49, 53: 58-63 Acessado em <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2018/boletim-epidemiologico-hivaid-2018>.
4. Casadevall. A, Perfect J. *Cryptococcus Neoformans*. ASM Pres, Washington DC. 1998. p: 1-519.
5. Chang CC, Crane M, Zhou J, Mina M, Post JJ, et al. Cameron B.A.; HIV and co-infections. *Immunol. Rev.* 2013; 254, 1:114-42.
6. Desjardins CA, Giamberardino C, Sykes SM, Yu CH, Tenor JL, Chen Y, et al. Population genomics and the evolution of virulence in the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Genome Res. Gen Res.* 2017; 27,7:1207–1219.
7. Firacative C.; Lizarazo J.; Illnait-ZaragozÍ M.T.; Castañeda E. The status of cryptococcosis in Latin America. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2018.113; 7: e170554.
8. Kadjo K, Ouattara B, Adoubryn KD, Kra O, Niamkey EK. Aspects actuels de la cryptococcose neuroméningée chez des sujets adultes infectés par le VIH dans le service de médecine interne du CHU de Treichville d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *J. Mycol. Méd.* 2011; 21: 6 - 9.
9. Kim H, Jung K, Maeg S, Chen Y, Shin J, et al. Network-assisted genetic dissection of pathogenicity and drug resistance in the opportunistic human pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. *Scient. Rep.* 2015; 5: 8767.
10. Kwizera R, Nguna J, Kiragga A, Nakavuma J, Rajasingham R, Boulware DR, et al.. Performance of Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay Using Saliva in Ugandans with CD4 <100. *Plos One.* 2014; 9, 7: e103156.
11. Leal AL, Faganello J, Fuentefria AM, Boldo JT, Bassanesi MC, Vainstein MH. Epidemiological profile of cryptococcal meningitis patients in Rio Grande do Sul, Brazil. *Mycopathologia.* 2008; 166: 71-5.
12. Lortholary O, Improvis L, Fitting C, Cavaillon JM. Influence of gender and age on course of infection and cytokine responses in mice with disseminated *Cryptococcus neoformans* infection. *Clin. microbiol. and Infect.* 2002; 8,1:31-37.

13. Mezzari A, Wliebbelling AMP, Freitas GSO, May GG, Albé GC, Filik HP, et al. Criptococose em um Hospital Público de Porto Alegre. *J. Infect. Control.* 2013; 2, 3:1-5.
14. Noguera MC, Escandón P, Castañeda E. Cryptococcosis in Atlántico, Colombia: an approximation of the prevalence of this mycosis and the distribution of the etiological agent in the environment. *Rev. Soc. Bras. Med.Trop.* 2015; 48, 5: 580-586.
15. Oliveira RB, Atobe JH, Souza SA, Santos DWC. L. Epidemiology of Invasive Fungal Infection in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome at Reference Hospital for Infectious Disease in Brazil. *Mycopathol.* 2014; 178: 71-78.
16. Perfect JR, Bicanic T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now *Fungal Genetics and Biology.* 2015, 78: 49–54.
17. 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. *Guidelines for Management of Cryptococcosis. Clin. Infect. Dis.* 2010; 50: 291–322.
18. Rajasignham R, Smith RM, Park BJ, Jarvis JN, Govender NP, Chiller TM, et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *The Lancet. Infect. Dis.* 2017; 17, 8: 873-881.
19. Rhodes J, Desjardins CA, Sykes M, Beale MA, Vanhove M, Sakthikumar S, et al. Tracing Genetics Exchange and Biogeography of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* at the Global Population Level. *Genet.* 2017; 207, 1: 327-346.
20. Trilles L, Lazera MS, 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; 103, 5: 455-62
21. Vidal JE, Boulware DR. Lateral flow assay for cryptococcal antigen: an important advance to improve the continuum of HIV care and reduce cryptococcal meningitis-related mortality. *Rev. Inst. Med.Trop.* 2015;57,19:38-45
22. Vidal JE, Gerhardt J, Peixoto de Miranda EJ, Dauar RF, Oliveira Filho GS, Penalva de Oliveira AC, et al. Role of quantitative CSF microscopy to predict culture status and outcome in HIV-associated cryptococcal meningitis in a Brazilian cohort. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* 2012; 73: 68-73.
23. Williamson PR. The relentless march of cryptococcal meningitis. *The Lanc. Infect. Dis.* 2017; 17, 8: 790-791.
24. WHO - World Health Organization 2018. Guidelines for the diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children: supplement to the 2016 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Acessado em <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/cryptococcal-disease/en/> 25/11/2018.

Tabela 1. Dados clínico-epidemiológicos e laboratoriais de pacientes HIV-AIDS com criptococose (n=70) do HU-FURG, RS, Brasil, no período de 2010 à 2016.

Variáveis	Formas Clínicas da Criptococose		
	MC (n=59)	CP (n=07)	CD (n=04)
Sexo			
Masculino (n=52/70)	72,9% (43/59)	71,4% (5/7)	100% (4/4)
Feminino (n=18/70)	27,12% (16/59)	28,6% (2/7)	0%
Sinais e sintomas			
Cefaléia (43/70)	69,5% (41/59)	14,28% (1/7)	25% (1/4)
Febre (37/70)	47,5% (28/59)	85,7% (6/7)	75% (3/4)
Queda de sensório (33/70)	49,15% (29/59)	42,9 % (3/7)	25% (1/4)
Náusea/vômito (31/70)	49,15% (29/59)	28,6% (2/7)	0%
Tosse (23/70)	25,4% (15/59)	71,4% (5/7)	75 % (3/4)
Dispnéia (22/70)	27,12% (16/59)	57,14% (4/7)	50% (2/4)
Déficit motor (15/70)	20,3% (12/59)	14,3% (1/7)	50% (2/4)
Alterações visuais (14/70)	23,7% (14/59)	0%	0%
Convulsão (10/70)	15,25% (9/59)	0%	25% (1/4)
Rigidez de nuca (3/70)	5,08% (3/59)	0%	0%
Coma (2/70)	3,4% (2/59)	0%	0%
Assintomáticos (2/70)	3,4% (2/59)	0%	0%
Dados laboratoriais de pior prognóstico da Cr			
TCD4 \leq 100cels/mm ³ (n= 42/53 testes)	79,5% (35/44)	60% (3/5)	100% (4/4)
TCD4 \leq 50cels/mm ³ (n= 34/53)	65,9% (29/44)	40% (2/5)	75% (3/4)
Carga viral \geq 50.000cópias (n= 40/53)	76% (35/46)	50% (2/4)	100% (3/3)
Citorraquia < 20 cels/mm ³ (n= 42/51)	81,4% (35/43)	100% (5/5)	66,7% (2/3)
Título Látex \geq 1:1024 (n=45/67)	68,8% (42/61)	0% (0/3)	100% (3/3)
Tempo de Permanência Hospitalar			
Média de dias	39,86 dias (DP=33,13)	33,3 dias (DP=18,81)	42,5 dias (SD=22,87)
Desfecho			
Óbito (n=37/70)	54,2% (32/59)	42,8% (3/7)	50% (2/4)
Alta (n=32/70)	45,8% (27/59)	42,8% (3/7)	50% (2/4)
Sem registro* (n=1/70)	0%	(1/7)	0%

MC: Meningite Criptocócica; CP: Cr Pulmonar; CD: Cr Disseminada.

*paciente transferido para outro hospital.

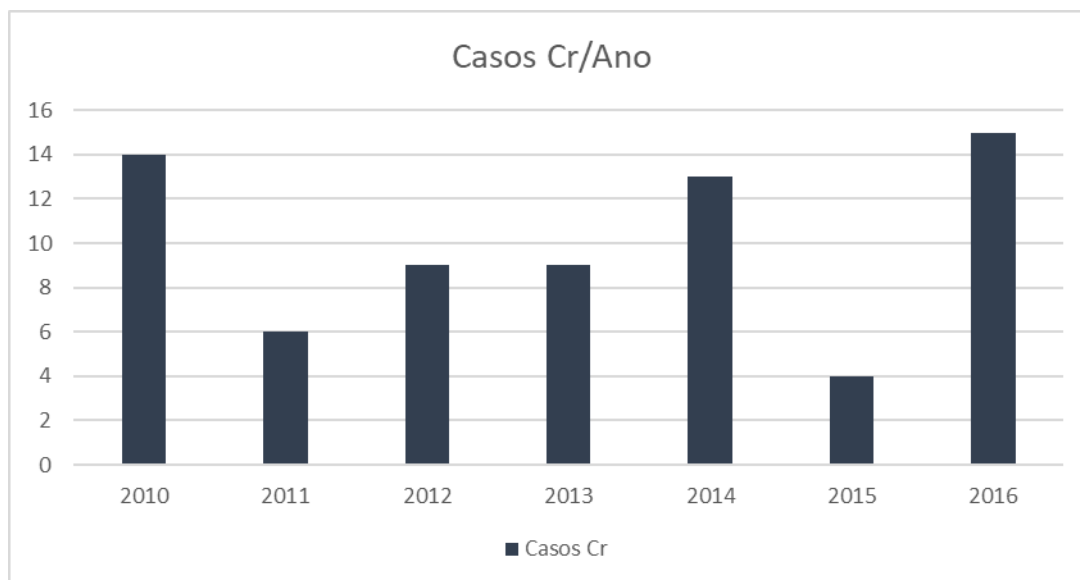


Figura 01. Distribuição anual dos 70 dos casos da coinfeção Cr/HIV-AIDS diagnosticados no HU-FURG, RS, Brasil, de Janeiro de 2010 a Dezembro de 2016.

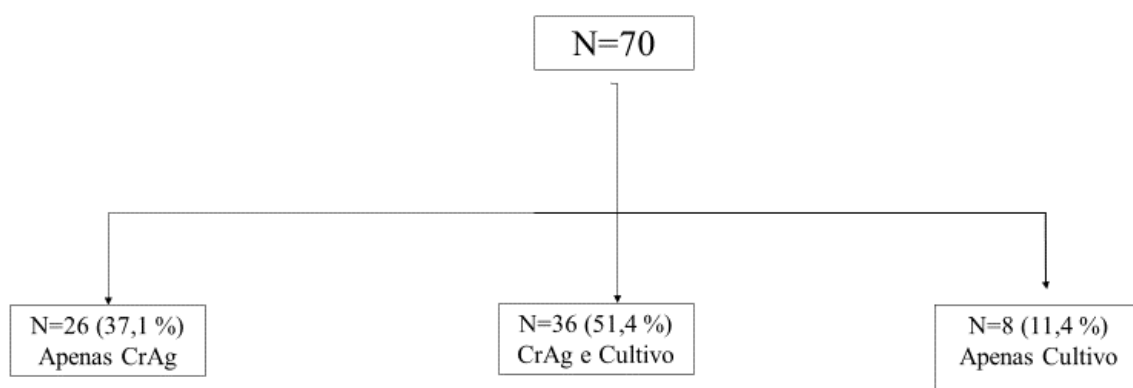


Figura 2: Organograma demonstrando os métodos laboratoriais de confirmação diagnóstica da Cr em pacientes HIV-AIDS no HU-FURG durante o período de 2010 a 2016.

5 CONCLUSÕES

- Em sete anos foram diagnosticados 70 casos de Cr, com predomínio de acometimento de SNC, e representando 5% do total de usuários do serviço. Os pacientes, em sua maioria, eram homens, na faixa etária de 39 anos e residentes do município do Rio Grande.

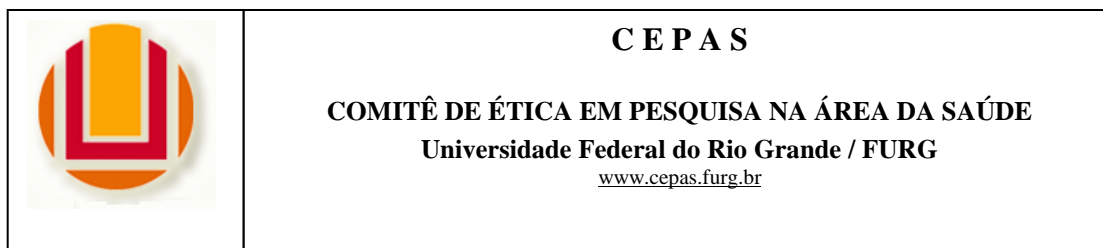
- Cerca da metade dos pacientes apresentava alguma outra comorbidade associada, com destaque a tuberculose, seguida de sífilis e hepatites.

- Mais da metade dos pacientes HIV-AIDS diagnosticados com criptococose no período do estudo evoluíram para óbito em média após cerca de três meses do primodiagnóstico da doença.

- A maioria dos pacientes apresentava fatores de mau prognóstico, porém o desfecho óbito só teve relação significativa com a presença de comorbidades.

- A TB ocorreu em uma frequência elevada nos pacientes estudados representando mais de um terço dos casos de criptococose diagnosticados no período.

APÊNDICE B



Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1 – CRIPTOCOCOSE EM PACIENTES HIV/AIDS ATENDIDOS NO HOSPITAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE E SUSCETIBILIDADE *IN VITRO* DOS ISOLADOS CLÍNICOS

2 – Trata-se de estudo retrospectivo e prospectivo que abrangerá o período de janeiro de 2010 a dezembro de 2017 e tem como objetivo Estudar a epidemiologia e os métodos diagnósticos da criptococose em pacientes HIV/AIDS atendidos no serviço de referência do Hospital Universitário Dr. Miguel Riet Correa Jr. da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e identificar o agente causal e sua suscetibilidade *in vitro* aos antifúngicos de eleição para o tratamento da doença. Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo, que visa utilizar os registros do seu prontuário (com o seu consentimento) para avaliar a história clínica da doença.

3 – Para coleta de dados será utilizado um formulário padrão preenchido a partir das informações do seu prontuário sem nenhuma alteração da sua rotina durante a internação;

4 – Não será solicitado nenhum exame adicional que não sejam e os exames de rotina solicitados pelo seu médico, durante o tratamento;

5 – É importante salientar que esta pesquisa será feita utilizando, exclusivamente, dados documentais sem que haja qualquer desconforto ou risco de procedimento invasivo;

6 – O desenvolvimento deste estudo pode vir a beneficiá-lo, bem como a outros portadores da doença quando estiver concluído e pudermos confirmar as hipóteses da pesquisa quanto ao diagnóstico e tratamento da doença.

7 – Se pode reafirmar quanto a este estudo que não haverá abordagem ou questionamentos individuais quanto a sua vida pessoal ou qualquer procedimento de coleta de amostras, conforme referido nos itens 3, 4 e 5;

8 – Fica garantido ao Sr/Sr^a que, em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é Msc. Enfermeira Lurdeti Bastos, a qual pode ser encontrada no endereço. Rua Visconde de Paranaguá, nº 102. Telefone (53) 32338882/32334636, e-mail: enferlu01@yahoo.com.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a pesquisa entrar em contato com Lurdeti Bastos.

9 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

10 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros prontuários de outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

11 – Será garantido ao Sr/Sr^a o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

12 – Certamente, não haverá nenhuma despesa pessoal para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

13 – Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

14 – É compromisso assumido pelo pesquisador utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **“CRIOCOSE EM PACIENTES HIV/AIDS ATENDIDOS NO HOSPITAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE E SUSCETIBILIDADE IN VITRO DOS ISOLADOS CLÍNICOS”**. Eu discuti com a Msc Enfermeira Lurdete Bastos da Silva sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal

Data / /

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /

APÊNDICE C

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Pesquisador:

Título da Pesquisa:

Instituição Proponente:

Versão:

CAAE:

CRIOCOCOSE EM PACIENTES HIV/AIDS ATENDIDOS NO HU-FURG

Melissa Orzechowski Xavier

Universidade Federal do Rio Grande - FURG

2

44604115.5.0000.5324

Área Temática:

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Número do Parecer:

Data da Relatoria:

1.136.458

03/07/2015

DADOS DO PARECER

O estudo tem como objetivo traçar o perfil epidemiológico da criptococose em pacientes HIV/AIDS atendidos

no serviço de referência do Hospital

Universitário (HU) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), bem como avaliar os métodos

diagnósticos empregados, proceder a

genotipagem e realizar testes de sensibilidade in vitro dos isolados clínicos frente aos antifúngicos de

eleição para o tratamento da criptococose.

Trata-se de estudo retrospectivo e prospectivo que abrangerá o período de janeiro de 2011 a dezembro de

2017. A coleta dos dados demográficos e

clínicos será realizada mediante avaliação de prontuários para preenchimento de formulário padrão

previamente elaborado. Os testes laboratoriais

serão realizados a partir dos isolados clínicos de *Cryptococcus* spp. mantidos na micoteca do serviço de

diagnóstico do Laboratório de Micologia da

FAMED-FURG. O teste de suscetibilidade in vitro será desenvolvido por técnica de microdiluição em caldo

para Fluconazol e Anfotericina B,

segundo o protocolo do CLSI M27-A3 para a determinação da MIC (Concentração Inibitória Mínima). A

CFM (Concentração Fungicida Mínima) será

realizada após semeadura em duplicata de uma alíquota de 10L dos poços correspondentes à

Apresentação do Projeto:

Financiamento PróprioPatrocinador Principal:

96.201-900

(53)3237-4652 E-mail: cepas@furg.br

Endereço: Bairro: CEP:

Telefone:

Rua Visconde Paranaguá,112/Hospital Universitári Campus Saúde UF: Município: RS RIO GRANDE Fax: (53)3233-6822

Página 01 de 05

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG

Continuação do Parecer: 1.136.458

MIC e às concentrações mais elevadas, em

Sabouraud a 35°C por 48 horas. A avaliação dos métodos diagnósticos se dará por levantamento de dados

laboratoriais sobre os resultados dos

testes sorológicos e micológicos. Os isolados clínicos serão identificados genotipicamente a partir da técnica

de reação em cadeia da polimerase

associada a restrição do fragmento do gene URA5 (PCR-RFLP) por meio das enzimas de restrição SAU96I

e HhaI, sendo o resultado observado em

gel de agarose 3% por eletroforese, e a identificação final interpretada de acordo com o perfil de bandas

obtido. O estudo proposto busca

demonstrar a prevalência da criptococose no HU-FURG, observando dados epidemiológicos e clínicos

referentes a casuística da infecção em

pacientes HIV/AIDS, assim como, a ocorrência de cepas resistentes a antifúngicos de eleição para o

tratamento da criptococose. A caracterização

genotípica das cepas permitirá avaliar a frequência e a distribuição dos agentes causais da doença na

região.

Objetivo Primário:

Estudar a epidemiologia e os métodos diagnósticos da criptococose em pacientes HIV/AIDS atendidos no

serviço de referência do Hospital

Universitário Dr. Miguel Riet Correa Jr. da Universidade Federal do Rio Grande (FURG) e identificar o

agente causal e sua suscetibilidade in vitro

aos antifúngicos de eleição para o tratamento da doença.

Objetivo Secundário:

Conhecer a prevalência da criptococose no serviço de referência em HIV/AIDS do HU-FURG; Identificar a

taxa de mortalidade relacionada a

criptococose em pacientes HIV/AIDS acompanhados pelo serviço de referência do HU-FURG; Avaliar

comorbidades, uso de HAART, CD4 e carga

viral e suas implicações no prognóstico da doença; Avaliar a taxa de recidiva, as principais apresentações

clínicas e sinais clínicos da doença;

Avaliar os métodos diagnósticos empregados para a detecção da criptococose no HU-FURG e comparar a

concordância entre os mesmos;

Pesquisar a ocorrência de cepas resistentes aos antifúngicos Fluconazol e Anfotericina B; Identificar

genotipicamente o agente causal dos casos de

Objetivo da Pesquisa:

96.201-900

(53)3237-4652 E-mail: cepas@furg.br

Endereço: Bairro: CEP:

Telefone:

Rua Visconde Paranaguá,112/Hospital Universitári Campus Saúde UF: Município: RS RIO GRANDE Fax: (53)3233-6822

Página 02 de 05

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG

Continuação do Parecer: 1.136.458

criptococose diagnosticados, evidenciando a frequência e distribuição dos mesmos.

Riscos:

Os riscos e desconfortos aos participantes decorrentes da investigação diagnóstica da doença fúngica não

estão condicionados à participação no

projeto, sendo realizados de forma rotineira mediante solicitação do médico. O estudo investigará somente

os dados documentais e incluirá os

isolados clínicos de *Cryptococcus* spp. previamente identificados e armazenados na micoteca do

Laboratório de Micologia da FAMED-FURG. A

abordagem para obtenção do documento TCLE para a autorização do uso dos prontuários será realizada

garantindo a confidencialidade das

informações e privacidade do paciente, mantendo o mesmo e/ou seus familiares em lugar reservado, sob

testemunho de um profissional da

assistência da unidade para garantir a idoneidade da ação e/ou evitar qualquer situação de constrangimento.

Benefícios:

Como benefícios, o estudo proposto demonstrará a casuística da criptococose no HU-FURG, revelando

dados epidemiológicos, clínicos e

laboratoriais da infecção em pacientes HIV/AIDS, assim como, a suscetibilidade in vitro de isolados clínicos

a antifúngicos de eleição no HU-FURG

para o tratamento da criptococose, com perspectivas de consubstanciar informações relevantes sobre os

fatores que influenciam o prognóstico da

doença. A caracterização genotípica das cepas poderá demonstrar a relação com a resistência aos

antifúngicos e permitirá uma melhor

caracterização dos agentes etiológicos envolvidos nos casos regionais, contribuindo para a otimização do

diagnóstico. Esses dados agregarão

informações importantes sobre a criptococose em pacientes HIV/AIDS na região, podendo servir de base

para uma melhor compreensão da

fisiopatologia e das alternativas terapêuticas de controle desta infecção, considerando que estudos similares

na região sul do Rio Grande do Sul são escassos na literatura científica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

*

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

96.201-900

(53)3237-4652 E-mail: cepas@furg.br

Endereço: Bairro: CEP:

Telefone:

Rua Visconde Paranaguá,112/Hospital Universitári Campus Saúde UF: Município: RS RIO GRANDE Fax: (53)3233-6822

Página 03 de 05

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG

Continuação do Parecer: 1.136.458

*

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Não há.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Situação do Parecer:

Não

Necessita Apreciação da CONEP:

PARECER Nº 71/2015

CEPAS 24/2015

CAAE: 44604115.5.0000.5324

Processo: 23116.003570/2015-44

Título da Pesquisa: CRIPTOCOCOSE EM PACIENTES HIV/AIDS ATENDIDOS NO HU-FURG.

Pesquisador: Melissa Orzechowski Xavier.

PARECER DO CEPAS:

O Comitê, considerando tratar-se de um trabalho relevante, o que justifica seu desenvolvimento, bem como

o atendimento à pendência informada no parecer 53/2015, emitiu o parecer de APROVADO para o projeto

“CRIPTOCOCOSE EM PACIENTES HIV/AIDS ATENDIDOS NO HU-FURG.”

Está em vigor, desde 15 de novembro de 2010, a Deliberação da CONEP que compromete o pesquisador

responsável, após a aprovação do projeto, a obter a autorização da instituição co-participante e anexá-la ao

protocolo do projeto no CEPAS. Pelo exposto, o pesquisador responsável deverá verificar se seu projeto

está obedecendo a referida deliberação da CONEP.

Segundo normas da CONEP, deve ser enviado relatório semestral de acompanhamento ao Comitê de Ética

em Pesquisa, conforme modelo disponível na página <http://www.cepas.furg.br>.

Data de envio do relatório final: 31/12/2018.

Considerações Finais a critério do CEP:

96.201-900

(53)3237-4652 E-mail: cepas@furg.br

Endereço: Bairro: CEP:

Telefone:

Rua Visconde Paranaguá,112/Hospital Universitári Campus Saúde UF: Município: RS RIO GRANDE Fax: (53)3233-6822

Página 04 de 05

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG

Continuação do Parecer: 1.136.458

Rio Grande, RS, 02 de julho de 2015.

Profª. Eli Sinnott Silva

Coordenadora do CEPAS/FURG

RIO GRANDE, 02 de Julho de 2015

Eli Sinnott Silva (Coordenador) Assinado por:

96.201-900

(53)3237-4652 E-mail: cepas@furg.br

Endereço: Bairro: CEP:

Telefone:

Rua Visconde Paranaguá,112/Hospital Universitári Campus Saúde UF: Município: RS RIO GRANDE Fax: (53)3233-6822

Página 05 de 05