

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE MEDICINA  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**CASSIUS CLAY SCOFONI FALEIROS DE AZEVEDO**

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES HIV POSITIVOS E  
NEGATIVOS ACOMETIDOS POR CRIPTOCOCOSE PROCEDENTES DE CUIABÁ  
E VÁRZEA GRANDE – MT – BRASIL**

**CUIABÁ/MT  
2017**

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES HIV POSITIVOS E  
NEGATIVOS ACOMETIDOS POR CRIPTOCOCOSE PROCEDENTES DE CUIABÁ  
E VÁRZEA GRANDE – MT – BRASIL**

**CASSIUS CLAY SCOFONI FALEIROS DE AZEVEDO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.  
Área de Concentração: Doenças Infecciosas e Tropicais

**Orientadora:** Profa. Dra. Rosane Christine Hahn  
**Co-Orientadora:** Profa. Dra. Olívia Cometti Favalessa

**CUIABÁ/MT  
2017**


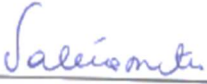

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Mestrando Cassius Clay Scofoni Faleiros de Azevedo.

"Perfil clínico-Epidemiológico e Molecular de pacientes HIV positivo e negativos acometidos por criptococose procedentes de Cuiabá e Várzea Grande - MT - Brasil".

Dissertação, apresentada a Universidade Federal de Mato Grosso, aprovada pela banca examinadora, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre.

Composição da Banca Examinadora:

1.  Dotor(a) Rosane Christine Hahn (Presidente Banca / Orientador)
2.  Dotor(a) Valéria Dutra (Examinador Interno)
3.  Dotor(a) Maria Lúcia Scroferneker (Examinador Externo)
4. \_\_\_\_\_ Dotor(a) Luciano Nakazato (Examinador Suplente)

**Dados Internacionais de Catalogação na Fonte.**

S421p Scofoni Faleiros de Azevedo, Cassius Clay.  
Perfil clínico-epidemiológico de pacientes HIV positivos e negativos acometidos por criptococose procedentes de Cuiabá e Várzea grande – MT – Brasil / Cassius Clay Scofoni Faleiros de Azevedo. -- 2017  
72 f. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Rosane Christine Hahn.  
Co-orientadora: Profa. Dra. Olívia Cometti Favalessa.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Faculdade de Ciências Médicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Cuiabá, 2017.  
Inclui bibliografia.

1. HIV. 2. Criptococose. 3. SIDA. 4. Cryptococcus neoformans.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**Permitida a reprodução parcial ou total, desde que citada a fonte.**

UFMT  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO

Reitora  
Profa. Dra. Myrian Serra

Vice-Reitor  
Prof. Dr. Evandro Silva

Pró-Reitora de Pós-Graduação  
Profa. Dra. Ozerina Victor de Oliveira

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

Coordenador  
Prof. Dr. Amílcar Sabino Damazo

**PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DE PACIENTES HIV POSITIVOS E  
NEGATIVOS ACOMETIDOS POR CRIPTOCOCOSE PROCEDENTES DE CUIABÁ  
E VÁRZEA GRANDE – MT – BRASIL**

Presidente da Banca: Profa. Dra. Rosane Christine Hahn

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dra Maria Lúcia Scrofernecker (Membro Titular externo - UFRGS)

Profa. Dra. Valéria Dutra (Membro Titular Interno - UFMT)

Prof. Dr. Luciano Nakasato (Membro Suplente Interno -UFMT)

## *Dedico*

Aos meus pais, HELVÉCIO OLIVEIRA DE AZEVEDO (*in memoriam*) e MARIA HELENA FALEIROS DE AZEVEDO, ela, sobretudo, guerreira que não mediu esforços no que diz respeito ao incentivo.

À minha amável orientadora Profa. Dra. ROSANE CHRISTINE HAHN, alicerce majoritária responsável pelos meus crescimento e desenvolvimento científicos.

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe MARIA HELENA FALEIROS DE AZEVEDO, doce amiga, mãe acolhedora que destinara muito de seu tempo, de joelhos dobrados, em oração, para que eu permanecesse em pé, firme em meu propósito.

À minha orientadora Profa. Dra. ROSANE CHRISTINE HAHN por conceder-me a honra e o privilégio de ser mais um aprendiz de tanta sabedoria emanada por V. S<sup>a</sup>. Agradeço a senhora por acreditar em mim, oportunizando-me a possibilidade de crescimento acadêmico nunca dantes desfrutado. Que Deus a abençoe rica e poderosamente por tudo!

Ao meu irmão Prof. MSc. FRANCISCO KENNEDY SCOFONI FALEIROS DE AZEVEDO pelo apoio moral, conhecimento, incentivo e contribuição técnica nessa valorosa pesquisa.

Ao meu irmão LAURO CESAR SCOFONI FALEIROS DE AZEVEDO pelo carinho e orações reportados a mim em todos os momentos mais difíceis dessa trajetória.

Ao meu amigo Prof. MSc. HUGO HOFFMANN pelo apoio técnico-científico referentes à tabulação de dados e análise estatística.

À Profa Dra. OLÍVIA COMETTI FAVALESSA pela parceria profícua permitindo a junção do referencial molecular ao clínico epidemiológico proposto neste estudo.

À MSc. LARISSA MARCHI ZANIOLO por sua importante colaboração na pesquisa de prontuários.

Ao prof. Dr. AMILCAR SABINO DAMAZO pela sua compreensão nos momentos difíceis.

A todos os professores da pós-graduação da Faculdade de Medicina da UFMT que colaboraram com meu aprendizado.

Aos colegas que frequentam o Laboratório de Investigação da Faculdade de Medicina pela agradável companhia.



*“Então tomou Samuel uma pedra, e a pôs entre Mizpá e Sem, e chamou-lhe Ebenézer; e disse: Até aqui nos ajudou o Senhor”*

***1 Samuel 7.12***

## RESUMO

A criptococose é causada por duas espécies distintas de leveduras, *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, as quais causam infecções invasivas com importante letalidade, em imunodeprimidos e imunocompetentes. No Brasil, a criptococose por *C. gattii* tem caráter endêmico, ocorrendo principalmente em indivíduos HIV negativos. Os genótipos tipo VNI de *C. neoformans* e o tipo VGI de *C. gattii* são os predominantes no mundo. Entretanto o genótipo VGII tem sido relacionado às meningites fúngicas humanas nas regiões N e NE do Brasil. *Cryptococcus neoformans* (predominantemente os sorotipos A e D) acomete mais os pacientes com SIDA, é cosmopolita e responsável por elevadas taxas de letalidade e mortalidade. O objetivo deste trabalho foi buscar a correlação entre os tipos moleculares previamente caracterizados a partir de isolados clínicos de pacientes HIV positivos e negativos acometidos por criptococose procedentes dos municípios de Cuiabá e Várzea Grande em Mato Grosso e o perfil clínico epidemiológico dos mesmos. Foram identificados 51 pacientes com criptococose no período analisado, sendo 62,7% (n=32) do sexo masculino e 37,8% (n=19) do sexo feminino, com idade média igual a 37,9 anos (IC95%=34,2-41,7), cor branca 41,2% (n=21), residentes em zona urbana 87,0% (n=40) e zona rural 13,0% (n=6). Dentre as comorbidades relatadas, as mais frequentes foram: SIDA 62,7% (n=32), tabagismo 27,4% (n=14), etilismo 11,8% (n=6), tuberculose 5,9% (n=3), hipertensão arterial sistêmica 5,9% (n=3) e hepatites virais 3,9% (n=2). *Cryptococcus neoformans* foi isolado em 72,5% (n=37) dos pacientes, sendo 97,3% (n=36) do tipo molecular VNI e 2,7% (n=1) VNII; e *C. gattii* em 27,5% (n=14) dos pacientes, sendo 100,0% (n=14) do tipo molecular VGII. Com relação às formas clínicas, foi observado: neurológica 74,5% (n=38), disseminada 15,7% (n=8), pulmonar 7,8% (n=4), lesão cutânea 2,0% (n=1). A principal droga antifúngica utilizada no tratamento foi anfotericina B 92,1% (n=35). A dose média acumulada foi igual a 704,3 mg (IC95%=521,2-887,5). O tempo médio entre a manifestação dos primeiros sintomas e o início do tratamento foi igual a 29,1 dias (IC95%=17,9-40,2). O tempo médio entre a manifestação dos primeiros sintomas e o início do tratamento foi estatisticamente semelhante tanto para *C. neoformans* quanto para *C. gattii* (p=0,51). Houve diferença estatística entre a pressão arterial sistólica média de pacientes com criptococose por *C. neoformans* comparado com a criptococose por *C. gattii* (p=0,04). Em conclusão, as características clínicas associadas aos perfis moleculares encontradas nos dois grupos de pacientes avaliados neste estudo revela o perfil epidemiológico local e suscita a importância do conhecimento destes parâmetros, considerando que a criptococose não é doença de notificação compulsória no estado de Mato Grosso. O tipo molecular associado à espécie *Cryptococcus gattii* circulante nos dois municípios avaliados é idêntico às regiões Norte e Nordeste. A consolidação da rede criptococose Brasil deverá fornecer ao longo dos próximos anos dados procedentes de cada estado permitindo ao longo do tempo o conhecimento do perfil molecular global no cenário nacional, associado ao perfil clínico epidemiológico de cada serviço de saúde que a compõe.

Palavras-chave: criptococose, HIV, Brasil, SIDA

## ABSTRACT

Cryptococcosis is caused by two distinct yeast species, *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, which cause invasive infections with significant lethality, in immunocompromised and immunocompetent individuals. In Brazil, *C. gattii* cryptococcosis is endemic, occurring mainly in HIV-negative individuals. *C. neoformans* NIV genotypes and *C. gattii* VGI type are the predominant genotypes in the world. However, the genotype VGII has been related to human fungal meningitis in the N and NE regions of Brazil. *Cryptococcus neoformans* (predominantly serotypes A and D) affects more patients with AIDS, is cosmopolitan and accounts for high rates of lethality and mortality. The objective of this work was to search for the correlation between molecular types previously characterized from clinical isolates of HIV positive and negative patients affected by cryptococcosis from the municipalities of Cuiabá and Várzea Grande in Mato Grosso and the clinical epidemiological profile of the same. Fifty-one patients with cryptococcosis were identified in the analyzed period, with 62.7% (n = 32) males and 37.8% (n = 19) females, with a mean age of 37.9 years (95% CI = 34.2-41.7), white 41.2% (n = 21), urban residents 87.0% (n = 40) and rural area 13.0% (n = 6). Among the comorbidities reported, the most frequent were: AIDS 62.7% (n = 32), smoking 27.4% (n = 14), alcoholism 11.8% (n = 6), tuberculosis 5.9% (n = 3), systemic arterial hypertension 5.9% (n = 3) and viral hepatitis 3.9% (n = 2).

*Cryptococcus neoformans* was isolated in 72.5% (n = 37) of the patients, being 97.3% (n = 36) of the molecular type NIV and 2.7% (n = 1) NIV; and *C. gattii* in 27.5% (n = 14) of the patients, being 100.0% (n = 14) of the molecular type VGII. Regarding the clinical forms, it was observed: neurological 74.5% (n = 38), disseminated 15.7% (n = 8), pulmonary 7.8% (n = 4), cutaneous lesion 2.0% (n = 1). The main antifungal drug used in treatment was amphotericin B 92.1% (n = 35). The mean dose was 704.3 mg (95% CI = 521.2-887.5). The mean time between onset of symptoms and initiation of treatment was 29.1 days (95% CI = 17.9-40.2). The mean time between the onset of symptoms and the beginning of treatment was statistically similar for both *C. neoformans* and *C. gattii* (p = 0.51). There was a statistical difference between the mean systolic blood pressure of patients with *C. neoformans* cryptococcosis compared to *C. gattii* cryptococcosis (p = 0.04). In conclusion, the clinical characteristics associated to the molecular profiles found in the two groups of patients evaluated in this study reveals the local epidemiological profile and raises the importance of knowledge of these parameters, considering that cryptococcosis is not a compulsory notification disease in the state of Mato Grosso. The molecular type associated with the circulating *Cryptococcus gattii* species in the two municipalities evaluated is identical to the North and Northeast regions. The consolidation of the cryptococcosis Brazil network will provide over the next years data from each state allowing over time the knowledge of the global molecular profile in the national scenario, associated with the epidemiological clinical profile of each health service that composes it.

Key words: cryptococcosis, HIV, Brazil, AIDS

## SUMÁRIO

RESUMO  
ABSTRACT

<b>1. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA</b> .....	18
<b>2. QUESTÃO DA CRIPTOCOCOSE NO ESTADO DE MATO GROSSO</b> .....	22
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	24
3.1 Criptococose.....	24
3.2 <i>Cryptococcus neoformans</i> e <i>Cryptococcus gattii</i> : aspectos fenotípicos.....	24
3.2.1 Aspectos fenotípicos .....	24
3.2.2 Ciclo biológico e ecologia das espécies do complexo <i>Cryptococcus</i> .....	26
3.3 Etiopatogenia.....	28
3.4 Caracterização de leveduras do complexo <i>Cryptococcus</i> .....	30
3.4.1 Caracterização fenotípica .....	31
3.5 Drogas Antifúngicas.....	32
3.5.1 Polienos.....	32
3.5.2 Agentes antifúngicos sintéticos (azóis).....	33
3.5.2.1 Fluconazol .....	34
3.5.2.2 Itraconazol.....	34
3.5.2.3 Voriconazol .....	35
3.5.2.4 Fluocitosina .....	35
3.6 Tratamento da criptococose .....	36
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	38
<b>4.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	39
<b>4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	39
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	40
5.1 Tipo de Estudo e período .....	41
5.2 Seleção dos pacientes e dados clínicos.....	41
5.3 Isolados clínicos obtidos de distintos materiais biológicos provenientes de pacientes HIV positivos e negativos com criptococose.....	41
5.4 Análise estatística.....	41
<b>6. RESULTADOS</b> .....	43
<b>7. DISCUSSÃO</b> .....	50
<b>8. CONCLUSÕES</b> .....	56

<b>9. PERSPECTIVAS .....</b>	<b>58</b>
<b>10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>60</b>
<b>11. ANEXOS .....</b>	<b>69</b>
11.1 Ficha Epidemiológica.....	72
11.2 Aprovação do Comitê de Ética.....	74

## **Lista de Tabelas e Gráficos**

**Tabela 1** – Características de pacientes HIV-positivos e HIV-negativos com criptococose

**Tabela 2** – Características dos pacientes com criptococose por tipo molecular

**Gráfico 1** – Distribuição histórica dos casos de criptococose por espécie

### Lista de Siglas e Abreviaturas

CERMAC - Centro Estadual de Referência de Média e Alta Complexidades de Mato Grosso

*C. gattii*- *Cryptococcus gattii*

*C. neoformans*- *Cryptococcus neoformans*

*C. laurentii*- *Cryptococcus laurentii*

*C. albidus*- *Cryptococcus albidus*

DNA- Ácido desoxirribonucleico

FM- Faculdade de Medicina

GalXM- Galactoxilomanana

GXM- Glucuronoxilomanana

g- grama

H - Hora

HCl- Ácido clorídrico

HAART- *Highly Active Antiretroviral Therapy*

HUJM-Hospital A

HIV- *Human Immunodeficiency Virus*

Kg- Quilogramas

KCl- Cloreto de Potássio

LBA- Lavado broncoalveolar

LCR- Líquido cefalorraquidiano

LI- Laboratório de Investigação

µg- Microgramas

mL- Mililitro

µg/mL- Microgramas por mililitro

mg- Miligramas

M- Molar

mM- Milimolar

MAT $\alpha$ - Mating type  $\alpha$

MATa- Mating type a

MLST- Multilocus sequence typing

NSA- Agar níger (*Guizotia abyssinica*)

NaCl- Cloreto de sódio

PCR- Reação em Cadeia de Polimerase

Pronto Socorro Municipal - Hospital B

RFLP-*Restriction Fragment Length Polymorphism*

RAPD- *Random Amplified Polymorphic DNA*

RPM- rotações por minuto

RPMI 1640- *Roswell Park Memorial*

SICLOM - Sistema de Controle Logístico de Medicamentos

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SNC- Sistema Nervoso Central

SISCEL - Sistema de Informação de Exames Laboratoriais

SDS- Dodecilsulfato de sódio

UNAIDS - Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS

U- Unidade

UFMT - Universidade Federal de Mato Grosso



## **1. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA**

Antes do surgimento da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), a criptococose era considerada uma infecção fúngica rara relacionada às deficiências na imunidade celular, acometendo um pequeno percentual da população (KWON-CHUNG et al, 1987). Após 1980, em razão da utilização de fármacos imunossupressores, houve um aumento na incidência da criptococose, sendo essa doença, atualmente, a quarta causa mais frequente de infecção oportunista em pacientes HIV positivos (ROZENBAUM et al, 1994; FRANZOT et al, 1997; PAPPALARDO et al, 2003; JARVIS et al, 2007). A criptococose representa hoje a causa mais comum de meningite em adultos em países com taxas elevadas de infecção pelo vírus HIV.

Além disso, está presente em pacientes exibindo taxas ascendentes os quais apresentam outras formas naturais de imunossupressão, além das iatrogênicas. Os pacientes imunocompetentes têm sido cada vez mais acometidos (WILLIAMSON et al, 2017).

Estima-se que aproximadamente 957.900 casos de meningite criptocócica ocorram a cada ano, resultando em mais de 600.000 mortes. O maior número de casos aparece na África, seguido pelo Sul e Sudeste Asiático (PARK et al, 2009).

O Brasil foi um dos primeiros países, dentre os de baixa e média renda a fornecer tratamento gratuito para pessoas que viviam com SIDA – em 1996 pelo Serviço Único de Saúde (SUS). Enquanto isso, a maioria desses países aguardava financiamento internacional para suas solicitações.

De 1980 a junho de 2016, foram notificados no país 842.710 casos de SIDA. O Brasil tem registrado, anualmente, uma média de 41,1 mil casos nos últimos cinco anos. Do ano 2000 – quando da implantação do relacionamento probabilístico dos dados – a junho de 2016, observou-se um total de 634.051 casos de SIDA, sendo que 445.763 (70,3%) foram notificados no SINAN, 47.586 (7,5%) no SIM e 140.702 (22,2%) no SISCEL/ SICLOM, estes últimos representando 29,7% de subnotificação no SINAN.

Além disso, observam-se importantes diferenças nas proporções dos dados segundo sua origem em relação às regiões do país. As regiões Sul e Centro-Oeste possuem maior proporção de casos oriundos do SINAN que o Norte, o Nordeste e o Sudeste. Chamam a atenção os estados do Pará e do Rio de Janeiro, com apenas 49,4% e 58,4% dos casos oriundos do SINAN, respectivamente. A distribuição proporcional dos casos de SIDA identificados de 1980 até junho de 2016 mostra uma concentração nas regiões Sudeste e Sul, correspondendo cada qual a 53,0% e 20,1% do total de casos; as regiões Nordeste, Centro-Oeste e Norte correspondem a 15,1%, 6,0% e 5,9% do total dos casos, respectivamente. Nos últimos cinco anos (2011 a 2015), a região Norte apresentou uma média de 3,9 mil casos ao ano; o Nordeste, 8,6 mil; o Sudeste, 16,8 mil; o Sul, 8,7 mil; e o Centro-Oeste, 2,8 mil.

A taxa de detecção de SIDA no Brasil tem apresentado estabilização nos últimos dez anos, com uma média de 20,7 casos/100 mil hab.; também se observa estabilização da taxa na região Centro-Oeste, com uma média de 18,5 casos/100 mil hab – segundo dados compilados pelo UNAIDS.

O Brasil hoje tem uma das maiores coberturas de tratamento antirretroviral (TARV) entre os países de baixa e média renda, com mais da metade (64%) das pessoas vivendo com HIV recebendo TARV segundo os dados mais atuais do Ministério da Saúde, enquanto a média global em 2015 foi de 46% – segundo dados compilados pelo UNAIDS.

A criptococose é uma grave infecção fúngica sistêmica que afeta humanos e uma grande variedade de animais, onde assume papel relevante na história da SIDA, por ser considerada uma das micoses mais comumente diagnosticadas entre os pacientes infectados pelo HIV e, também, a principal responsável pela morbidade e mortalidade (MORETTI et al, 2008).

É causada principalmente por duas espécies de leveduras do gênero *Cryptococcus*: *Cryptococcus neoformans* (sorotipo A, D e AD) e *Cryptococcus gattii* (sorotipo B e C). Com relação aos tipos moleculares, *C. neoformans* foi agrupado em VNI e VNII (sorotipo A), VNIII (Sorotipo AD) e VNIV (Sorotipo D), enquanto que *C. gattii* foi agrupado nos tipos VGI, VGII, VGIII e VGIV (sorotipos B e C) (MEYER et al, 2010).

Pacientes imunocomprometidos são frequentemente acometidos pelo *C. neoformans* sorotipo A e D. Essa espécie apresenta distribuição mundial, sendo considerada importante causa de morbimortalidade nestes pacientes, principalmente os portadores de retrovírus. *C. neoformans* associa-se à matéria orgânica, em habitats de pombos, de aves em cativeiros e em ambientes domésticos - poeira doméstica, em madeiras em decomposição e em ocos de árvores de diferentes espécies.

Já em indivíduos hígidos, manifesta-se como criptococose primária, endêmica, atingindo áreas tropicais e subtropicais, causada principalmente por *Cryptococcus gattii* (LÁZERA et al, 1998; FRANZOT et al, 1999; CHEN et al, 2000; MEYER et al, 2010).

A criptococose causada por *C. neoformans* ou pelo *C. gattii* pode provocar meningoencefalite, de evolução grave e fatal, acompanhada ou não de lesão pulmonar evidente, podendo cursar com fungemia e com focos secundários envolvendo pele, ossos, rins e suprarrenal (WILLIAMSON et al, 2017).

A mortalidade por criptococose é estimada em 10% nos países desenvolvidos, chegando a 43% nos países em desenvolvimento como a Tailândia, em um tempo médio de sobrevida de 14 dias (GUIDELINES IN CRYPTOCOCCOSIS, 2008).

O tratamento da neurocriptococose baseia-se na terapia inicial com anfotericina B 0,7 a 1mg/kg/dia intravenosa, associada a 5-Fluocitosina: 100mg/kg/dia via oral, dividida em quatro doses por 2 semanas e a consolidação, com fluconazol 400mg/dia, via oral por 6 a 10 semanas (GUIDELINES IN CRYPTOCCOSIS, 2008).

A anfotericina B tem sido usada há mais de 50 anos e continua sendo a primeira opção terapêutica para tratamento das micoses mais graves e disseminadas, devido às frequentes reações adversas (ANDREO et al, 2007).

As diferenças entre as espécies e a gravidade da criptococose, acometendo pacientes imunodeprimidos ou não, tem levado a busca de antifúngicos com melhor espectro / atividade frente às estas leveduras (SANCHEZ et al, 1992; SAAG et al, 2000). Entretanto, as recomendações para a primeira linha de antifúngicos não tem sofrido modificações por mais de uma década e estão baseadas na indução, consolidação e manutenção do esquema utilizado desde 1997, mostrando o efeito sinérgico entre anfotericina B e flucitosina para erradicação da infecção quando comparada à utilização de anfotericina B em monoterapia (WILLIAMSON et al, 2017).

Devido ao aumento da incidência da criptococose por *C. neoformans* acometendo pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida, houve acréscimo no uso dos “azóis” para o tratamento, assim como seu uso profilático, podendo desencadear o desenvolvimento de resistência (PAPPALARDO et al, 2003).

Em razão da predominância do isolamento de *C. gattii* como agente primário dessa patologia em indivíduos hígidos, apresentando graves quadros de meningite, é recomendável que laboratórios possam estar aptos à implantação dos métodos de determinação do perfil de susceptibilidade *in vitro* para *C. neoformans* e *C. gattii* no que diz respeito aos diferentes antifúngicos. Este procedimento pode ser útil para avaliar a eficácia do tratamento e também acompanhar a evolução da doença (PERKIS et al, 2005; SOUZA et al, 2005; MORETTI et al, 2008; WILLIAMSON et al, 2017).

## **2. QUESTÃO DA CRIPTOCOCOSE NO ESTADO DE MATO GROSSO**

Apesar da recente melhoria dos recursos diagnósticos para identificação dos agentes *C. neoformans* e *C. gattii*, ainda não existem estudos que nos permitam conhecer os perfis moleculares associados ao perfil clínico epidemiológico dos pacientes acometidos por criptococose no estado de Mato Grosso. No entanto, Hospital A, que atua como referência para internação dos pacientes HIV positivos demanda com frequência vários casos clínicos de criptococose em pacientes tanto HIV positivos como HIV negativos. De igual forma, o CERMAC (Centro de Referência para Alta e Média Complexidade) considerando o perfil de atendimento ambulatorial, também tem demandado numerosos casos de pacientes HIV positivos, os quais, em algum momento da infecção pelo vírus, apresentam acometimento de SNC por *C. neoformans*, posteriormente encaminhados ao Hospital A. Já, no município de Várzea Grande, o Hospital B representa o serviço de saúde de referência para internação destes pacientes.

Este trabalho consistiu na descrição do perfil clínico-epidemiológico dos pacientes atendidos nos Hospitais A e B, correlacionando-o com os tipos moleculares circulantes no estado, previamente caracterizados a partir do isolamento das leveduras do complexo *Cryptococcus* provenientes de pacientes acometidos por criptococose.

A região Centro Oeste conta com grande atividade de extração e exportação de madeira, além da predominância da agropecuária, o que servirá como base ao conhecimento da situação local e para comparação com os dados das demais regiões do Brasil e de outros países, bem como para estudos de acompanhamento e vigilância da criptococose nesse rico cenário geográfico, representado pelo Cerrado, Pantanal e Amazônia, que constitui inquestionável biodiversidade.

Além disso, representará o estado de Mato Grosso trazendo os primeiros resultados para a composição do perfil clínico-epidemiológico e molecular da rede Criptococose Brasil, organizada e liderada pela equipe da FIOCRUZ (RJ), divisão de micoses sistêmicas.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### 3.1 Criptococose

Criptococose (torulose, blastomicose européia, doença de Busse-Buschke) é uma infecção fúngica de natureza sistêmica, de porta de entrada inalatória, causada por espécies do complexo *Cryptococcus*. O gênero *Cryptococcus* apresenta 39 espécies descritas, sendo *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* agentes etiológicos mais comuns da criptococose humana e animal, havendo também casos mais raros diagnosticados por outras espécies, como *C. laurentii* e *C. albidus*. Apresentam tropismo pelo sistema nervoso central, respiratório e tegumentar (ROZEMBAUM et al, 1994; LACAZ et al, 2002).

O primeiro relato de criptococose humana foi descrito em 1894 por Otto Busse e Abrham Buschke. O fungo foi isolado em uma lesão na tíbia de uma mulher com 31 anos de idade. No mesmo ano, Francesco Sanfelice isolou pela primeira vez essa levedura capsulada em suco de pêsego fermentado denominando-a de *Saccharomyces neoformans*. Este trabalho representou o marco inicial dos estudos sobre criptococose (LACAZ et al, 2002).

Em 1901, o micologista Vuillemin classificou as leveduras isoladas por Busse (1894) e Sanfelice (1894) como gênero *Cryptococcus*, devido à ausência de ascoporos em virtude da fermentação de carboidratos, características do gênero *Saccharomyces*, as quais foram denominadas de *Cryptococcus hominis* e *C. neoformans* (KWON-CHUNG et al, 1987).

As manifestações clínicas mais graves afetam o sistema nervoso central, sendo uma de suas principais formas a meningoencefalite, responsável por grande morbidade e mortalidade entre pacientes com AIDS (ROZEMBAUM et al, 1994; JARVIS et al, 2007).

A pneumonia nem sempre manifesta sinais clínicos. Já a meningite e meningoencefalite são as formas clínicas mais comuns da doença (CALVO et al, 1991; ROZEMBAUM et al, 1994; MITCHELL & PERFECT, 1995).

Grandes criptococomas pulmonares e cerebrais são mais comumente associados à infecção por *C. gattii* (CALVO et al 1991; ROZEMBAUM et al, 1994; MITCHELL & PERFECT, 1995; PAPPALARDO et al, 2003).

### 3.2 *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*: aspectos fenotípicos

#### 3.2.1 Aspectos fenotípicos

As espécies pertencentes ao complexo *Cryptococcus* são caracterizadas como leveduras encapsuladas arredondadas ou ovaladas, medindo cerca de 3 a 8 milímetros de diâmetro, apresentando brotamento único ou múltiplo.



*C. neoformans* e *C. gattii* são considerados os agentes etiológicos mais comuns da criptococose. O complexo inclui as leveduras *C. neoformans* var. *grubii* (sorotipo A), *C. neoformans* var. *neoformans* (sorotipo D), o híbrido *C. neoformans* (AD) e *C. gattii* (sorotipos B e C). As espécies *C. gattii* e *C. neoformans* apresentam diferentes aspectos relacionados às suas características epidemiológicas, habitat natural, manifestações clínicas da doença e resposta à terapia antifúngica (CASEDEVALL & PERFECT, 1998; CHEN et al, 2000).

Macroscopicamente, as colônias de leveduras do gênero *Cryptococcus*, semeadas em ágar-Sabouraud e/ou extrato de malte incubado a 25°C, apresentam-se como colônias brilhantes, viscosas e úmidas, com tonalidade creme. Após um mês, as colônias apresentam-se com textura mucóide e aspecto de leite condensado, em virtude do metabolismo dos carboidratos, que não são fermentadoras e sim assimilativas, detendo capacidade de utilizar inositol como única fonte de carbono. O *C. neoformans* desenvolve-se bem à temperatura de 37°C, apresentando rápido crescimento, diferente do *C. gattii*, que nessa temperatura apresenta crescimento lento, não formando micélio e nem pseudomicélio (KWON-CHUNG, BENNETT, 1992; MITCHELL & PERFECT, 1995; LACAZ et al, 2002).

Vale ressaltar que as leveduras pertencentes a este gênero são capazes de produzir melanina através da enzima – fenoloxidase, presente na parede celular, com capacidade de oxidar substâncias fenólicas presentes nos meios de cultura preparados com extratos vegetais (cenoura, batata) ou sementes de niger (*Guizotia abyssinica*), produzindo pigmento amarronzado, tipo melanina. Devido à produção de pigmento pelas colônias de *C. neoformans* e de *C. gattii* semeadas em ágar niger, é possível a diferenciação de outras leveduras não pertencentes ao gênero *Cryptococcus* (DENNING et al, 1990; LACAZ et al, 2002; PEDROSO et al, 2007).

Baseando-se nos antígenos específicos da cápsula polissacarídea, o *Cryptococcus neoformans* apresenta cinco sorotipos, (A, B, C, D e AD), subdivididos em três variedades: variedade *grubii* (sorotipo A), variedade *neoformans* (sorotipo A, D e AD) e variedade *gattii* (B e C) (FRANZOT et al, 1997; JARVIS & HARRISON, 2007).

Várias mudanças ocorreram após o ano de 2006 em relação à taxonomia deste agente, posto que, o *C. neoformans*, que antes compreendia a ordem *Filobasidiales*, foi reclassificado à ordem *Tremelalles*.

Outra alteração foi baseada em marcadores moleculares, com a seguinte taxonomia: espécie *C. neoformans* com duas variedades, *C. neoformans* var. *grubii* (sorotipo A); *C. neoformans* var. *neoformans* (sorotipo D) e híbridos (sorotipo AD), e *C. neoformans* var. *gattii*

– espécie *C. gattii* (sorotipos B e C) (WANKE et al, 2006; KWON-CHUNG et al, 2006; MEYER & TRILLES, 2010).

*C. gattii* foi recentemente reclassificado como um complexo apresentando múltiplas espécies (HAGEN et al, 2015). Estas espécies foram previamente subdivididas em quatro distintos tipos moleculares, VGI a VGIV, classificadas por vários métodos moleculares (ELLIS et al, 2000). *Cryptococcus gattii* (anteriormente denominado VGI) e *Cryptococcus deuterogattii* (anteriormente denominado VGII) são os tipos moleculares mais frequentemente encontrados. *C. gattii*/VGI é mais isolado na Austrália, enquanto que *C. deuterogattii*/VGII é mais comum na América do Sul. Entretanto atualmente esta classificação têm sido alvo de críticas por outro grupo de pesquisadores, liderados pela Dra Kwon-Chung, Dr John Perfect e Dr Wieland Meyer. Até o momento, como foi observado no Congresso Internacional de *Cryptococcus* e criptococose realizado no Brasil (Foz do Iguaçu) em março do corrente ano, não houve consenso entre os grupos.

### 3.2.2 Ciclo biológico e ecologia das espécies do complexo *Cryptococcus*

*Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, na fase saprofítica de seus ciclos biológicos, encontram-se no meio ambiente geralmente associados a material vegetal em decomposição, fezes de aves, ocos de árvores vivas e, interagindo também com outros microrganismos, como amebas e nematoides (CASEDEVALL et al, 2003).

As referidas espécies são predominantemente isoladas em sua forma assexuada em isolados clínicos e ambientais. Em condições laboratoriais, já foi observado que, por serem basidiomicetos heterotáticos, podem ainda passar para uma fase dimórfica e se transformarem na forma filamentosa por dois caminhos distintos: conjugação de células haplóides  $\alpha$  e a mating-type, para produzir filamentos dicarióticos, como também frutificação monocariótica, que produz filamentos e basidiósporos (KWON-CHUNG et al, 1982).

As leveduras do gênero *Cryptococcus* apresentam reprodução sexuada e assexuada no seu ciclo de vida. Na fase assexuada ou anamorfa, as leveduras do gênero *Cryptococcus* apresentam-se como células haplóides, com envoltório capsular arredondados ou ovalados, não possuindo hifas ou pseudo-hifas. Isolados de *Cryptococcus* spp semeados em meios de cultivos clássicos, como ágar-Sabouraud, após 48 horas de incubação às temperaturas de 25 a 37 °C

apresentaram colônias de coloração creme, de aspecto brilhante, textura mucóide e margem lisa (LACAZ et al, 2002).

A fase sexuada ou teleomórfica ainda não foi observada na natureza, sendo obtida somente por reprodução em laboratório, através do cruzamento de duas cepas compatíveis (MATa e MAT $\alpha$ ) (KWON-CHUNG et al, 1982; CHATURVEDI et al, 2009).

Estudos em modelos animais sugerem que o tipo sexuado  $\alpha$  seja mais virulento, bem como apresenta maior resistência aos antifúngicos *in vitro*. Estes dados correlacionam-se com predomínio marcante de *C. neoformans* MAT $\alpha$  em isolados clínicos e ambientais (KWON-CHUNG & BENNETTI, 1992). A relação do tipo sexuado com a virulência é uma característica marcante das espécies do complexo *Cryptococcus*. Sistemas de regulação vinculados ao cruzamento sexuado, e a capacidade de filamentação vêm sendo estudados como alvos potenciais futuros para terapêutica ou profilaxia dessa micose.

A produção de feromônio é fundamental para a ocorrência do ciclo sexuado e, em determinadas condições, modula a expressão de outros genes (CNLA1, CAP59, CAP60, CAP64), cujas funções são importantes para a virulência, como produção de melanina e de cápsula. Os genes de feromônio são distintos para MATa e MAT $\alpha$  (KWON-CHUNG, et al, 1982; CHATURVEDI et al, 2009).

O *C. neoformans* apresenta distribuição cosmopolita, frequentemente associado às fezes de pombos, as quais são ricas em compostos nitrogenados que favorecem a sobrevivência e multiplicação do fungo. É bem resistente à dessecação e sobrevive melhor protegido de altas temperaturas e sem exposição direta à luz solar. Esta levedura já foi isolada de diferentes fontes ambientais como igrejas, prédios históricos, praças, poleiros, grades de gaiolas e viveiros de aves nas cidades do Rio de Janeiro RJ, Pelotas-RS, Porto Alegre-RS, Campo Grande-MS, Goiânia-GO, Cuiabá-MT (FILIU et al, 2002; HORTA et al, 2002; REOLON et al, 2004; BARONI, et al 2006; TAKAHARA, 2011).

Outras fontes ambientais, como microfocos ou habitats naturais já foram encontradas em madeiras em decomposição, habitat de morcego, detritos vegetais dentro de ocos de diversas árvores como *Syzygium jambolanais* (LAZERA et al, 1993), *Cassia grandis*, *Senna multijuga*, *Ficus microcarpa* (LAZERA et al, 1996), *Senna siamea* (COSTA et al, 2009), *Laurus* spp, *Pinus* spp (ANZAI et al, 2013).

A espécie *C. gattii* encontra-se presente em folhas, em partes ocas de troncos, em madeiras em decomposição de árvores pertencentes às espécies australianas *Eucalyptus camaldulensis* e *Eucalyptus tereticornis*, como também nas árvores nativas existentes em

regiões dos continentes de clima tropical e subtropical (SORREL, 2001; RANDHAWA et al, 2003). Várias espécies de *C. gattii* foram encontradas colonizando ocos de árvores, incluindo *Eucalyptus camaldulensis*, na Austrália e México (ELLIS & PFEIFFER, 1990; LICEA, et al, 1996), *Cattapa terminalia*, na Colômbia (CALLEJAS et al, 1998).

No Brasil foram encontrados em *Syzygium jambolana*, *Cassia grandis*, *Senna multijuga*, *Ficus microcarpa*, *Moquilea tomentosa* e *Guettarda acreana* (LICEA et al, 1996; LAZÉRA et al, 2000; FORTES et al, 2001), *Platymenia reticulata*, (ANZAI et al, 2014). Contudo, outras fontes têm sido demonstradas, como em fezes de morcegos em sótãos de casas antigas (LAZERA et al, 1993) e excretas de aves (ABEGG et al, 2006).

### 3.3 Etiopatogenia

A infecção humana é adquirida através da inalação de propágulos infectantes dispersos no ambiente. Esses propágulos são as células das leveduras desidratadas e/ou basidiósporos, suficientemente pequenos (menores que cinco micrômetros de diâmetro) para o depósito nos alvéolos pulmonares, promovendo a infecção pulmonar primária. A infecção pode ocorrer de forma assintomática, ou sintomática, dependendo da resposta imune do hospedeiro, do tamanho do inóculo e da virulência do fungo e, normalmente, tem resolução espontânea (SUKROONGREUNG et al, 1998; FRASER et al, 2003; LIN & HEITMAN, 2006).

Em alguns casos, a criptococose pulmonar pode mimetizar a tuberculose, apresentando lesões nodulares sem calcificação e eventual cavitação. Outras apresentações incluem massa localizada semelhante à neoplasia e, algumas vezes, manifesta-se como pneumonia, podendo evoluir para insuficiência respiratória aguda (JONGWUTIWES et al, 2008; MORETTI et al, 2008).

A forma pulmonar é a segunda mais frequente e acomete 35,7% dos pacientes HIV negativos. Na pneumopatia observa-se febre, tosse, emagrecimento, dor no peito e expectoração (MORETTI et al, 2008). Apenas pequena parte dos casos evolui progressivamente, em sua maioria, os de localização em sistema nervoso central (SNC). Lesões pulmonares são diagnosticadas principalmente quando associadas à lesão de SNC ou quando se apresentam em forma pseudo-tumoral (KWON-CHUNG & BENNETT, 1992; LAZERA et al, 2005).

São descritos na literatura três mecanismos pelos quais o *Cryptococcus* spp atravessa a barreira hematoencefálica, atingindo o SNC. O primeiro mecanismo é conhecido como “cavalo de Tróia”, onde a levedura permanece latente no interior das células do hospedeiro, transitando para outros tecidos sem exposição ao sistema imune. Esse mecanismo já foi descrito para

diferentes fagócitos mononucleares como macrófagos pulmonares, monócitos circulantes (FELDMESSER et al, 2000; LEVITZ, 2002). O segundo mecanismo sugere que pode ocorrer uma transferência lateral, onde fagócitos infectados transferem a levedura para o interior de células endoteliais dos capilares da barreira hematoencefálica e, no terceiro, as células fúngicas são capazes de ultrapassar sozinhas as células endoteliais e, conseqüentemente, atingir o tecido cerebral (MITCHELL et al, 1995).

Acredita-se que o neurotropismo contribua para a evasão ao sistema imune do hospedeiro e pela grande quantidade de catecolaminas existentes no SNC. Estas servem de substrato para a enzima fenoloxidase, que os converte em melanina, protegendo, assim, o agente da atividade oxidante (MITCHELL et al, 1995). Os fatores ligados ao estabelecimento da criptococose não dependem apenas da virulência inerente ao fungo, mas também da forma como este se esquivava da resposta imunológica do hospedeiro (BARLUZZI et al, 1998).

Diversos fatores de virulência estão implicados na patogenia do *C. neoformans* e do *C. gattii*, podendo ser destacado a termotolerância à 37°C, síntese de melanina, presença de cápsula e de produção de exoenzimas como fenoloxidase, fosfolipases e urease (CAMPOS et al, 1999; LACAZ et al, 2002; AKHTER et al, 2003).

A termotolerância (habilidade do fungo de sobreviver e se multiplicar à temperatura de 37°C) é uma propriedade comum dos fungos patogênicos, tais como *C. neoformans*, *H. capsulatum*, *Candida* spp, *S. schenckii*, entre outros. Diversos genes são necessários para o crescimento em altas temperaturas, por exemplo, CNA1 que codifica a calcinerina A (ALSPAUGH et al, 2000; AKHTER et al, 2003; KRAUS et al, 2003).

A melanina interfere na virulência da levedura, com grande tropismo pelo SNC, o qual é rico em catecolaminas como a 3,4- hidroxifenilamina (DOPA). Em vários sistemas biológicos a melanogênese inicia-se com a oxidação da tirosina para DOPA e, após uma série de reações, ocorre a formação de melanina como produto final da reação. Esse processo é catalisado por uma lacase. No entanto, outros organismos podem ter a DOPA ou catecolaminas para formar a melanina através de uma fenoloxidase.

O *C. neoformans* utiliza catecolaminas do cérebro do hospedeiro para produzir melanina, protegendo, desse modo, a arginina da ação oxidativa, pela remoção dos radicais livres. As células contendo este pigmento de melanina são menos susceptíveis à ação da anfotericina B (POLACHEK & KWON-CHUNG, 1982; HOGAN et al, 1996; LACAZ et al, 2002). No ambiente, a melanina protege a levedura contra a luz ultravioleta, altas temperaturas, congelamento e descongelamento (WANG et al., 1995; ROSAS & CASADEVALL 1997).

## Revisão Bibliográfica

Mutantes com deleção da lacase são hipovirulentos em camundongo, confirmando o papel da melanina durante a infecção (SALAS et al, 1996).

A presença da cápsula mucopolissacarídea é uma característica distinta, sendo considerada importante fator de virulência antifagocítico e imunodepressor, porque consome fatores do complemento, absorve e neutraliza opsoninas e anticorpos protetores, além de promover, ainda, a inibição da quimiotaxia de neutrófilos (BARONI et al, 2006).

Essa cápsula é constituída pelos polissacarídeos principais, 90-95% de glucuronoxilomanana (GXM), 5% galactoxilomanana (GalXM) e manoproteínas (MP). GXM é o principal componente da cápsula, estruturalmente é uma  $\alpha$ -(1,3)-manana com cadeias laterais de  $\beta$ -(1,2)-ácido glicurônico,  $\beta$ -(1,2)-xilose ou  $\beta$ -(1,4)-xilose. A GalXM consiste de um  $\alpha$ -(1,6)-galactana, com cadeias laterais de oligossacarídeos contendo manose, xilose e galactose (VAISHNAV et al., 1998). A diferença na estrutura das glucuronoxilomananas de sua parede celular permitiu a identificação dos cinco sorotipos conhecidos. O tamanho da cápsula é determinado pelo genótipo e pelas condições de crescimento oferecidas, sendo que as leveduras mostram-se em cápsulas pequenas quando no ambiente e espessa durante a infecção (KWON-CHUNG & BENNETT, 1992; HOGAN, et al, 1996).

O Mating type  $\alpha$  tem sido relacionado à virulência e ao aumento da fertilidade em *C. gattii*. A maioria dos isolados ambientais no surto de Vancouver são MAT  $\alpha$  (FRASER et al., 2003). As exoenzimas fosfolipases e proteinases são implicadas como fatores de virulência em leveduras, diretamente relacionadas à invasão e/ou evasão do sistema imunológico do hospedeiro, favorecendo a disseminação hematogênica e o acometimento das meninges. A produção de fosfolipase é capaz de digerir membranas celulares e promover lise celular, além de destruir substância surfactante nos pulmões, facilitando, com isso, a adesão da levedura (VIDOTTO et al, 1996; SANTANGELO et al, 1999; KARKOWSKA-KULETA et al, 2009).

As proteinases degradam tecidos do hospedeiro e destroem proteínas imunologicamente importantes como colágeno, elastina, fibrinogênio, imunoglobulinas e fatores do complemento (CHEN et al, 1996). Essas enzimas são produzidas durante a replicação da levedura em macrófagos, causando danos à membrana fagossomal (CAMPOS & BARONI, 1999). As ureases conferem virulência à *C. neoformans*, visto que mutantes nulos para o gene Ure1 apresentam reduzida virulência em modelos de infecção em camundongos (COX et al, 2001).

### 3.4 Caracterização de leveduras do complexo *Cryptococcus*

## Revisão Bibliográfica

### 3.4.1 Caracterização fenotípica

O diagnóstico da criptococose baseia-se principalmente na demonstração das leveduras capsuladas na amostra clínica, através do exame direto em preparações com tinta da China e no subsequente isolamento em cultura. A diferenciação das espécies ocorre através de provas bioquímicas e também por meio de métodos moleculares (SAAG et al, 2000; LACAZ et al, 2002; PAPPALARDO & MELHEM, 2003; PINTO JUNIOR et al, 2006).

As leveduras do gênero *Cryptococcus* coram-se por tinta da China ou tinta nanquim porque durante a realização do exame direto sua cápsula não permite a penetração do corante e, com isso, podem ser visualizadas estruturas que lembram um “céu estrelado”, com o fundo negro e as leveduras transluminescentes. Pode ser realizado nas mais variadas amostras clínicas como, por exemplo: líquido, sangue, escarro, lavado broncoalveolar (LBA), urina, secreção de lesões cutâneo-mucosas, biópsias, secreções prostáticas, punções entre outros (SAAG et al., 2000; LACAZ et al., 2002; PAPPALARDO & MELHEM, 2003; PINTO JUNIOR et al., 2006; MORENO-SANCHES et al, 2007).

Estas leveduras são cultivadas normalmente em ágar Sabouraud, tanto à temperatura ambiente quanto a 37°C; crescem de 48 a 72 horas ou até em uma ou duas semanas. Suas colônias apresentam-se de coloração creme planas ou ligeiramente elevadas, brilhantes, úmidas, que logo se tornam mucóides. As colônias de *Cryptococcus* spp podem ser semeadas em ágar niger (*Guizotia abyssinica*), com o objetivo de serem diferenciadas de outras leveduras não pertencentes a este complexo, devido à produção de pigmento melanina. O ágar níger é rico em fenóis, os quais são oxidados pela fenoloxidase sintetizada por este fungo, caracterizando as colônias com uma coloração marrom escura.

Segundo a literatura, a maioria das cepas de *C. neoformans* e *C. gattii* produz pigmento marrom quando cultivadas em meios de cultura com substratos fenólicos, enquanto para as outras espécies, muitas vezes esse fenômeno não ocorre (HAMILTON & HOLDOM, 1999; LACAZ et al, 2002; PEDROSO et al, 2007).

Com relação às suas características fisiológicas e bioquímicas, apresentam prova do tubo germinativo negativa. O crescimento em meio de cultura contendo cicloheximida é negativo e positivo em ágar Sabouraud, temperatura de 37°C. As espécies do complexo *Cryptococcus* não possuem habilidade de fermentar carboidratos, porém, assimilam por metabolismo oxidativo a glicose, maltose, sacarose e galactose. A capacidade de assimilar inositol como única fonte de carbono pode ser útil para diferenciar das espécies de *Rhodotorula* (LACAZ et al, 2002; WINN et al, 2008).

O teste da urease é uma prova bioquímica utilizada para identificação do complexo *Cryptococcus*, pois leveduras pertencentes a este complexo são capazes de realizar a hidrólise da uréia, com produção de amônia. A alcalinização do meio, por este processo, causando a mudança do indicador de pH neutro para básico, evidenciando uma coloração de tom róseo intenso. A diferença existente entre as espécies é a inibição da urease por *C. gattii* na presença de EDTA. Este fato não ocorre com *C. neoformans* (KWON-CHUNG et al, 1982; LACAZ et al, 2002).

Outra prova bioquímica para diferenciar as espécies *C. neoformans* e *C. gattii* é a quimiotipagem em meio CGB. Este teste é baseado em dois parâmetros metabólicos, isolados da espécie *C. gattii* assimilam a glicina como única fonte de carbono e nitrogênio e são resistentes à canavanina. Portanto, o teste positivo é observado quando a cor amarelo-esverdeada do meio torna-se azul-cobalto, como resultado da alcalinização do meio em decorrência da amônia liberada durante a degradação da glicina *C. neoformans* não demonstra mudança na coloração do meio por não usar essa via metabólica (KWON-CHUNG et al, 1982).

### 3.5 Drogas Antifúngicas

Os fármacos antifúngicos atuais podem ser divididos em dois grupos: o primeiro, os antifúngicos que ocorrem naturalmente, tais como os polienos e as equinocandinas e o segundo, os fármacos sintéticos incluindo os azóis e as pirimidinas fluoradas (MARTINEZ et al, 2006; RANG et al, 2007).

O grupo das drogas azólicas teve seu uso clínico iniciado em meados da década de 1970, causando grande impacto no cenário da terapia antifúngica devido a seu largo espectro de ação. A maior parte das drogas antifúngicas que compõe o arsenal terapêutico para combate das infecções fúngicas disponíveis até o momento apresentam como alvo os esteróis da membrana celular fúngica. Estas estruturas se assemelham às células humanas e, portanto, como consequência destas similaridades bioquímicas e fisiológicas, o uso destas drogas antifúngicas tornam-se limitadas em virtude da toxicidade significativa. Poucos são os compostos que exibem seletividade suficiente para uso nas infecções fúngicas que acometem humanos (MARTINEZ et al, 2006; RANG et al, 2007).

#### 3.5.1 Polienos



A anfotericina B tem ação seletiva, ligando-se avidamente às membranas dos fungos e de alguns protozoários e, menos avidamente, às células dos mamíferos. Age, ligando-se aos esteróis da membrana celular do fungo, alterando a permeabilidade da membrana e provocando extravasamento dos componentes intracelulares. A anfotericina B é ativa contra a maioria dos fungos e das leveduras e é considerado padrão-ouro para tratamento das infecções fúngicas sistêmicas (RANG et al, 2007). Para o tratamento das infecções fúngicas sistêmicas, este fármaco é utilizado por via intravenosa de forma lenta GROLL & KOLVE, 2004; RANG et al, 2007).

A anfotericina B se liga fortemente às proteínas plasmáticas, penetrando pouco nos tecidos e em membranas, inclusive na barreira hematoencefálica, porém, quando as meninges encontram-se inflamadas, pode atravessar essa barreira mais prontamente. Sua eliminação ocorre muito lentamente pelos rins, sendo encontrados traços deste medicamento na urina por dois meses ou mais após o fim da administração (FILIPPIN & SOUZA, 2006; RANG et al, 2007).

O efeito adverso mais grave da anfotericina B é, sem dúvida, a toxicidade renal, pois algum grau de redução da função renal ocorre em mais de 80% dos pacientes. A hipocalcemia ocorre em 25% dos pacientes, havendo necessidade de suplementação de cloreto de potássio. A hipomagnesemia também pode ocorrer e a anemia pode ser um problema adicional. Outros efeitos adversos incluem: o comprometimento da função hepática, a trombocitopenia e as reações anafiláticas. A injeção frequente resulta inicialmente em calafrios, febre, zumbido e cefaléia e cerca de um, em cada cinco pacientes, vomita. As preparações lipossomo-encapsuladas e, com complexos lipídicos, não possuem maior eficácia que o convencional, mas provocam menos efeitos adversos (MARTINEZ et al, 1998; RANG et al, 2007)

Lipossomas e outras estruturas lipídicas são utilizadas para transportar e aumentar o índice terapêutico de fármacos. Duas formulações lipídicas da anfotericina B estão disponíveis para uso médico: lipossomal, em dispersão coloidal e em complexo lipídico. Essas preparações apresentam menores efeitos adversos, menor toxicidade renal, mas possuem discreta hepatotoxicidade (VOS et al, 1995; FILIPPIN & SOUZA, 2006).

### **3.5.2 Agentes antifúngicos sintéticos (azóis)**

Os azóis representam um grupo de agentes fungistáticos sintéticos com amplo espectro de atividade, baseado nos núcleos imidazol ou triazol. O mecanismo de ação consiste em

## Revisão Bibliográfica

inibição da enzima fúngica do citocromo P450, lanosina 14 $\alpha$ -demetilase, que é responsável pela conversão do lanosterol em ergosterol, o principal esteroide da membrana fúngica. A depleção resultante de ergosterol altera a fluidez da membrana e, desta forma, interfere na ação das enzimas associadas à membrana. A depleção do ergosterol da membrana reduz os locais de ligação para anfotericina (GROLL & KOLVE, 2004; RANG et al, 2007).

### 3.5.2.1 Fluconazol

O fluconazol apresenta boa absorção e pode ser administrado via oral e intravenosa. Atinge grandes concentrações no líquido cefalorraquidiano e nos líquidos oculares. Apresenta meia vida de aproximadamente 25 horas, sendo que 90% são eliminados sem alterações na urina e 10% nas fezes (MARTINEZ, 2006; RANG et al, 2007). Apresenta amplo espectro de ação para leveduras, incluindo *Candida* spp, *Cryptococcus* spp, *H. capsulatum* e *P. brasiliensis*. É ativo contra *C. albicans*, porém cepas de *C. krusei* e de *C. glabrata* são menos sensíveis. Os efeitos adversos do fluconazol geralmente são brandos e incluem náuseas, cefaléia e dor abdominal. Todavia, lesões esfoliativas da pele foram relatadas em alguns indivíduos, presentes primeiramente nos pacientes com SIDA (MOYSÉS & FIGUEIREDO, 1996; GROLL & KOLVE, 2004; MARTINEZ, 2006; RANG et al, 2007).

### 3.5.2.2 Itraconazol

O itraconazol é um derivado triazólico insolúvel em água, altamente lipofílico e ativo contra dermatófitos. Pode ser administrado oralmente, porém, após a sua absorção ocorre intensa metabolização hepática. Este fármaco é altamente lipossolúvel e tem uma formulação na qual o fármaco é incorporado dentro de bolsas de  $\beta$ -ciclodextrina, está disponível e desta forma pode ser utilizado por via intravenosa. O tempo de meia-vida para administração oral é de 36 horas, sendo eliminado na urina (RANG et al, 2007).

Seus efeitos adversos incluem distúrbios gastrintestinais, cefaléia e tonturas. Podem apresentar, em menor proporção, hepatite, hipocalcemia e impotência. É possível, também, ocorrência de reações alérgicas. Ainda não foi relatada a inibição da esteroidogênese, como no caso do cetoconazol. As interações medicamentosas ocorrem como resultado da inibição de enzimas do citocromo P450, inclusive interações com inibidores de protease que são utilizados na terapia antirretroviral ativa (*HAART - Terapia Antirretroviral Altamente Ativa*) (RANG et al, 2007).

## Revisão Bibliográfica

### 3.5.2.3 Voriconazol

Este fármaco mantém as propriedades gerais dos azólicos, porém bloqueia mais intensamente a síntese de ergosterol dos fungos filamentosos para os quais chega a ser fungicida. É fungistático para espécies de *Candida* spp, inclusive àquelas resistentes ao fluconazol, *Cryptococcus* spp e *Trichosporon* spp (GUPTA, et al, 1994). Esta droga está disponível para administração por via oral, como comprimidos revestidos por película (50 ou 200mg) ou em pó, para suspensão oral, bem como uma formulação intravenosa na dosagem de 200mg, utilizando o veículo ciclodextrina para solubilizar a droga (BARLUZZI et al, 1998).

A absorção não depende de acidez gástrica e apresenta boa biodisponibilidade. Alcança níveis inibitórios para fungos no encéfalo e líquido cefalorraquidiano. Por ser excretado e metabolizado no fígado, é necessário ajustar a dose ou evitá-lo, quando há insuficiência hepática (BARLUZZI et al., 1998; GROLL & KOLVE, 2004; MARTINEZ, 2006).

### 3.5.2.4 Fluocitosina

A flucitosina é um antifúngico fluorado sintético que apresenta ação fungistática sobre diversos fungos, como *Cryptococcus* spp, *Candida* spp, *Torulopsis* spp e *Aspergillus* spp. É uma pirimidina, que depois da sua administração por via oral, transforma-se dentro da célula fúngica em 5-fluoruracil e, depois, em 5-fluordesoxiuridina. Esse último comporta-se como um antimetabólito, que interfere na biossíntese normal dos ácidos nucléicos e nucleotídeos vitais para o crescimento do fungo, onde atua alterando o RNA do fungo, transformando-o em RNA fluorado, com a inibição da síntese proteica (BENNETT, 1977; POLAK & SCHOLER, 1980; HARRIS et al, 1986; BENSON & NAHATA, 1988; LOYSE et al, 2013).

A flucitosina apresenta rápida absorção pelo trato gastrointestinal, distribuindo-se amplamente pelo organismo, com biodisponibilidade acima de 80% e com ligação às proteínas plasmática menor que 4%. Atinge concentrações similares às do plasma (80%) no SNC, apresentando excelente penetração no LCR e também penetra no humor aquoso e ultrapassa a placenta. Sua meia-vida plasmática é de 4 horas, mas pode ser prolongada a 24 horas ou mais em indivíduos com insuficiência renal, pois o fármaco é eliminado por filtração glomerular, com índice semelhante ao da creatinina. Cerca de 90% da droga é eliminada pelos rins. É apresentada em comprimidos de 500 mg e a dose habitual é de 150 mg/kg/dia via oral, fracionada em 4 a 6 tomadas diárias (HARRIS et al, 1986; VERMES et al, 2003). A flucitosina apresenta menos efeitos colaterais que a anfotericina B, mas é possível a ocorrência de diarreia, náuseas e vômitos. É hepatotóxica e mielotóxica (DIASIO et al, 1978; LOYSE et al, 2013).

### 3.6 Tratamento da criptococose

Em razão da alta mortalidade e morbidade provocada pela criptococose, principalmente acometendo SNC em pacientes HIV positivos, torna-se necessário que a terapia seja instituída imediatamente após diagnóstico (MITCHELL & PERFECT, 1995). As formas assintomáticas diagnosticadas esporadicamente podem ser autolimitadas. Já as formas pulmonares primárias, em pacientes hígidos, não requerem tratamento, a não ser uma conduta expectante por parte do clínico, com monitoramento.

Entretanto, em pacientes portadores de imunossupressão, com manifestações pulmonares primárias ou secundárias, as infecções do SNC devem ter a conduta terapêutica semelhante à da neurocriptococose (MORETTI et al, 2008). Nas formas graves, principalmente de SNC, seja o paciente infectado ou não pelo HIV, a fase de indução tem por objetivo negatização ou redução efetiva da carga fúngica, tendo como período mínimo de tratamento o lapso de duas semanas. A fase de consolidação, que compreende a manutenção de negatividade micológica e a normalização de parâmetros clínicos e laboratoriais, deve se dar por pelo menos oito semanas. Segue-se à fase de supressão, também chamada de manutenção, por mínimo um ano, com tempo adicional variando de acordo com a condição do estado imune do hospedeiro (MORETTI et al, 2008).

O tratamento da neurocriptococose baseia-se na terapia inicial com anfotericina B 0,7 a 1mg/kg/dia IV, associada à fluocitosina: 100mg/kg/dia VO, dividida em quatro doses, por 2 semanas. A consolidação, fluconazol 400mg/dia VO, por 6 a 10 semanas. O fluconazol apresenta boa atividade antifúngica contra *C. neoformans* (MORETTI et al, 2008). Já existem relatos na literatura de resistência de *C. neoformans* ao fluconazol e também à anfotericina B. (LOZANO-CHIU et al, 1998; SAR et al, 2004; PERKINS et al, 2005).

O fluconazol tornou-se o medicamento eleito na quimioprofilaxia secundária de pacientes recuperados de um evento de meningite criptococócica (GOLDMAN et al, 2001; LIFSON et al, 2006). No entanto, existem relatos na literatura de aparecimento de resistência ao fluconazol e itraconazol durante a terapia de manutenção (JARVIS & HARRISON, 2007).

A tendência atual para tratamento da criptococose em pacientes com SIDA na fase inicial da doença é a utilização de anfotericina B = 0,7 a 1mg/kg/ dia, durante as duas primeiras semanas de tratamento, associado à fluocitosina, 100 mg / kg / dia, seguida por altas doses de fluconazol = 800 mg / dia, por oito a doze semanas. Na fase de manutenção, é administrado 200

mg/dia de fluconazol. Com este esquema há uma significativa redução das taxas de mortalidade por meningite criptococose em pacientes com SIDA, de 14-25% para 6% (SAAG et al, 2000; MORETTI et al, 2008).



#### 4.1 Objetivo Geral

Obter e correlacionar dados clínicos e epidemiológicos dos isolados das espécies do complexo *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* com o perfil molecular dos mesmos

#### 4.2 Objetivos Específicos

- Obter através de levantamento em prontuários médicos, dados clínicos a partir da utilização da ficha epidemiológica da rede Criptococose Brasil referentes aos isolados selecionados provenientes de dois hospitais públicos (Hospital A e Hospital B).
- Comparar os dados obtidos em Cuiabá e Várzea Grande, com outros estudos nacionais (composição da rede criptococose Brasil) e internacionais.
- Associar as características clínicas e epidemiológicas dos pacientes acometidos aos tipos moleculares previamente obtidos.
- Conhecer a distribuição histórica dos casos de criptococose por espécie

## **5. MATERIAL E MÉTODOS**



### **5.1 Tipo de Estudo e período**

Epidemiológico retrospectivo no período compreendido entre Janeiro/2005 a Abril/2009 e Setembro/2010 a Fevereiro/2014.

### **5.2 Seleção dos pacientes e dados clínicos**

Os pacientes incluídos neste estudo foram subdivididos em HIV positivos e HIV negativos e procedentes de dois hospitais públicos denominados A e B, correspondendo aos municípios de Cuiabá e Várzea Grande. Este estudo foi submetido ao comitê de ética em pesquisa envolvendo seres humanos do Hospital Universitário Júlio Muller (HUJM) e aprovado sob o número de parecer 888/CEP/HUJM/2010.

Os dados clínicos foram obtidos através da revisão de prontuários, seguindo ficha epidemiológica específica (Rede Criptococose Brasil) previamente elaborada, para identificar o perfil clínico-epidemiológico dos pacientes acometidos por criptococose e respectiva correlação aos tipos circulantes do complexo *Cryptococcus* no estado de Mato Grosso.

### **5.3 Isolados clínicos obtidos de distintos materiais biológicos provenientes de pacientes HIV positivos e negativos com criptococose**

Encontram-se preservados na micoteca do laboratório de micologia / Investigação da faculdade de medicina da UFMT, e foram caracterizados previamente ao nível molecular pela Dra. Olívia Cometti Favalessa em sua tese de doutorado, apresentada ao PPGCS – FM/UFMT em outubro- 2014.

### **5.4 Análise estatística**

Utilizou-se o software Stata versão 12.0 (College Station, TX, EUA) para realizar a descrição da amostra por frequências relativas e absolutas das variáveis independentes, bem como, testar a associação entre as variáveis independentes e a variável desfecho óbito por análises bivariadas e múltiplas por meio da regressão de Poisson com variância robusta,

estimativa da razão de prevalências (RP) e respectivos intervalos de confiança (IC95%). Somente as variáveis independentes com  $p < 0,20$  na análise bivariada foram incluídas na análise múltipla. O modelo final foi composto por variáveis que permaneceram associadas ao desfecho ao nível de 5%, e/ou aquelas mantidas como variáveis de controle. O teste de Hosmer-Lemeshow foi utilizado para avaliar a qualidade do ajuste do modelo aos dados observados.



Foram identificados 51 pacientes com criptococose no período analisado, sendo 62,7% (n=32) do sexo masculino e 37,8% (n=19) do sexo feminino, com idade média igual a 37,9 anos (IC95%=34,2-41,7), cor branca 41,2% (n=21), residentes em zona urbana 87,0% (n=40) e zona rural 13,0% (n=6). Em relação à ocupação, foram autônomos 25,5% (n=12), do lar 19,1% (n=9), estudantes 14,9% (n=7), trabalhadores rurais 8,5% (n=4), mecânicos 4,3% (n=2), trabalhadores da construção civil 4,3% (n=2) e outros 23,4% (n=11).

Dentre as comorbidades relatadas, foram observadas: SIDA 62,7% (n=32), tabagismo 27,4% (n=14), etilismo 11,8% (n=6), tuberculose 5,9% (n=3), hipertensão arterial sistêmica 5,9% (n=3), hepatites virais 3,9% (n=2), diabetes melitos 2% (n=1), corticoterapia 2% (n=1).

Os principais sintomas foram: cefaleia 78,4% (n=40), febre 74,5% (n=38), êmese 66,7% (n=34), astenia 35,3% (n=18), alteração de consciência 25,5% (n=13), convulsão 23,5% (n=12), tosse produtiva 19,6% (n=10), fotofobia 13,7% (n=7), anorexia 13,7% (n=7), diarreia 11,8% (n=6), hiporexia 7,8% (n=4), déficit focal 5,9% (n=3), mialgia 5,9% (n=3), artralgia 5,9% (n=3), visão dupla 3,9% (n=2), visceromegalia 3,9% (n=2), déficit motor 3,9% (n=2), dispneia 3,9% (n=2), rigidez na nuca 2% (n=1), turvação visual 2% (n=1), amaurose 2% (n=1), sonolência 2% (n=1), anasarca 2% (n=1).

Foram observadas as seguintes médias: escala de Glasgow 11,7 (IC95%=5,9-17,4), temperatura axilar 36,9°C (IC95%=36,4-37,3), pressão arterial sistólica 116,8 mmHg (IC95%=111,7-121,9), pressão arterial diastólica 71,6 mmHg (IC95%=67,5-75,7), frequência cardíaca 86,9 bpm (IC95%=81,5-92,3), frequência respiratória 21,2 rpm (IC95%=18,9-23,4).

Foi realizada punção lombar 74,5% (n=38), sendo o LCR de 68,8% (n=22) de aspecto claro e 31,2% (n=10) turvo. A celularidade média foi igual a 59,8 (IC95%=20,6-98,9), polimorfonucleares 26,9 (IC95%=11,0-42,7), mononucleares 66,8 (IC95%=51,7-81,8), glicose 31,2 (IC95%=23,6-38,8), proteína 31,8 (IC95%=17,7-45,9), hemácias 11,3 (IC95%=7,1-15,5).

Foram observadas as seguintes taxas de positividade: escarro 100,0% (7/7), cultivo de tecido 100,0% (1/1), LCR nanquim 91,2% (31/34), hemoculturas 75% (9/12), da cultura de LCR de 63,6% (7/11).

*Cryptococcus neoformans* foi isolado em 72,5% (n=37) dos pacientes, sendo 97,3% (n=36) do tipo molecular VNI e 2,7% (n=1) VNII; e *C. gattii* em 27,5% (n=14) dos pacientes, sendo 100,0% (n=14) do tipo molecular VGII. Com relação às formas clínicas, foram observadas: neurológica 74,5% (n=38), disseminada 15,7% (n=8), pulmonar 7,8% (n=4), lesão cutânea) 2,0% (n=1).

A principal droga antifúngica utilizada no tratamento foi a anfotericina B 92,1% (n=35). A dose média foi igual a 704,3 mg (IC95%=521,2-887,5). O tempo médio entre a manifestação

dos primeiros sintomas e o início do tratamento foi igual a 29,1 dias (IC95%=17,9-40,2). Na consolidação 86,9% (n=20) fizeram uso do antifúngico fluconazol, com dose média igual a 310 (IC95%=253,4-366,5). Do total de pacientes, foram a óbito 45,8% (n=22), sendo a criptococose a causa direta do óbito em 90,0% dos casos (n=18) nos prontuários onde foi possível localizar essa informação.

Entre os pacientes que não foram a óbito, houveram as seguintes sequelas: alteração cognitiva 19,2% (n=5), perda parcial ou total da visão 7,7% (n=2) e déficit motor 7,7% (n=2).

As análises bivariada e múltipla estão apresentadas na tabela 1.

A glicose média no LCR colhido na punção foi estatisticamente diferente (p=0,006) e menor entre os pacientes que foram a óbito (Média=23,0; IC95%=17,5-28,5) do que entre os pacientes que não foram a óbito (Média=36,3; IC95%=29,9-42,8).

Não houve diferença estatística entre a média de idade e o desfecho criptococose por *C. neoformans* ou *C. gattii* (p=0,06); também não houve para a temperatura axilar com o mesmo desfecho (p=0,07), para dose média utilizada no tratamento (p=0,78), para frequência cardíaca (p=0,45), frequência respiratória (p=0,66), para pressão arterial diastólica média (p=0,17). Entretanto, houve diferença estatística entre a pressão arterial sistólica média de pacientes com criptococose por *C. neoformans* comparado com a criptococose por *C. gattii* (p=0,04).

O tempo médio entre a manifestação dos primeiros sintomas e o início do tratamento foi estatisticamente semelhante tanto para *C. neoformans* quanto para *C. gattii* (p=0,51).

**Tabela 1. Características de pacientes HIV-positivos e HIV-negativos com criptococose.**

Variáveis	n (%)	HIV-positivo	HIV-negativo	RP	IC95%	p-valor
		(n=32)	(n=19)			
<b>Demográficas</b>						
<b>Idade (anos) *</b>	-	39,9 (36,9-42,9)	34,8 (26,2-43,3)	-	-	0,19
<b>Sexo, masculino</b>	32 (62,7)	21 (65,6)	11 (57,9)	1,13	0,72-1,79	0,58
<b>Cor, Branca</b>	21 (41,2)	13 (40,6)	8 (42,1)	0,98	0,63-1,50	0,92
<b>Moradia, urbana</b>	40 (86,9)	26 (89,6)	14 (82,3)	1,30	0,56-2,99	0,48
<b>Comorbidades</b>						
<b>Diabetes</b>	1 (1,9)	1 (3,1)	0	1,61	1,29-2,00	1,00
<b>Corticoterapia</b>	1 (1,9)	1 (3,1)	0	1,61	1,29-2,00	1,00
<b>Etílico</b>	6 (11,8)	5 (15,6)	1 (5,3)	1,39	0,90-2,13	0,39

<b>Tuberculose</b>	3 (5,9)	2 (6,2)	1 (5,3)	1,06	0,46-2,44	0,88
<b>Hipertensão</b>	3 (5,9)	1 (3,1)	2 (10,5)	0,52	0,10-2,59	0,55
<b>Tabagismo</b>	14 (27,4)	11 (34,4)	3 (15,8)	1,38	0,93-2,05	0,20
<b>Hepatite</b>	2 (3,9)	2 (6,2)	0	1,63	1,31-2,04	0,52
<b>Sinais e Sintomas</b>						
<b>Febre</b>	38 (74,5)	23 (71,9)	15 (78,9)	0,87	0,56-1,36	0,74
<b>Êmese</b>	34 (66,7)	23 (71,9)	11 (57,9)	1,28	0,77-2,12	0,36
<b>Respiratório</b>	11 (21,6)	8 (25,0)	3 (15,8)	1,21	0,78-1,88	0,50
<b>Oftalmológico</b>	11 (21,6)	8 (25,0)	3 (15,8)	1,21	0,78-1,88	0,50
<b>Neurológico</b>	46 (90,2)	32 (100,0)	14 (73,7)	-	-	0,005
<b>Temperatura axilar *</b>	-	37,1 (36,5-37,7)	36,5 (35,9-37,1)	-	-	0,21
<b>Pressão arterial sistólica *</b>	-	113,9 (107,6-120,3)	122,1 (114,6-129,7)	-	-	0,10
<b>Pressão arterial diastólica *</b>	-	70,3 (65,1-75,5)	73,6 (67,3-79,8)	-	-	0,41
<b>Frequência cardíaca *</b>	-	88,1 (80,8-95,5)	82,7 (74,1-91,3)	-	-	0,34
<b>Frequência respiratória **</b>	-	20 (18-23)	20 (18-22)	-	-	1,00
<b>LCR parâmetros</b>						
<b>Punção realizada</b>	38 (74,5)	25 (78,1)	13 (68,4)	1,22	0,70-2,12	0,51
<b>Aspecto turvo</b>	10 (31,2)	6 (28,6)	4 (36,4)	-	-	0,70
<b>Total de células **</b>	-	11 (5-150)	50 (3-124)	-	-	0,91
<b>Polimorfonuclear **</b>	-	28 (10-70)	14 (10-78)	-	-	0,98
<b>Mononuclear **</b>	-	74 (40-80)	75 (65-90)	-	-	0,55
<b>Glicose * - mg%</b>	-	30,1 (23,9-36,3)	33,7 (26,1-41,2)	-	-	0,64
<b>Proteína ** - mg/L</b>	-	23 (15-50)	18 (14-32)	-	-	0,23
<b>Hemácias **</b>	-	10 (4-24)	10 (8-11)	-	-	0,58
<b>Índia <i>ink</i> positivo</b>	31 (91,2)	19 (86,4)	12 (100,0)	0,61	0,46-0,81	0,54
<b>Cultura positiva</b>	7 (63,6)	6 (66,7)	1 (50,0)	1,14	0,60-2,17	0,66
<b>Hemocultura positiva</b>	9 (75,0)	7 (70,0)	2 (100,0)	0,77	0,55-1,10	1,00
<b>Escarro positivo</b>	7 (100,0)	3 (100,0)	4 (100,0)	-	-	-

<b>Espécie</b>						
<i>C. neoformans</i>	37 (72,5)	29 (90,6)	8 (42,1)	3,66	1,32-10,1	<0,001
<i>C. gattii</i>	14 (27,4)	3 (9,4)	11 (57,9)			
<b>Tipo molecular</b>						
VNI	36 (70,7)	29 (90,6)	7 (36,8)	4,02	1,44-11,2	<0,001
VNII	1 (1,9)	0	1 (5,3)			
VGII	14 (27,4)	3 (9,4)	11 (57,9)			
<b>Tratamento</b>						
Tempo entre o início dos sintomas e o início do tratamento (dias) **	-	24 (1-35)	35 (3-36)	-	-	0,21
Anfotericina B	35 (92,1)	25 (100,0)	10 (76,9)	-	-	0,03
Dose no tratamento (mg) **	-	683,7 (500,0-750,0)	600,0 (500,0-800,0)	-	-	0,90
Fluconazol (consolidação)	20 (86,9)	12 (80,0)	8 (100,0)	0,60	0,42-0,86	0,53
Dose na consolidação (mg) *	-	250,0 (157,5-342,5)	362,5 (300,3-424,7)	-	-	
<b>Sequelas</b>						
Amaurose	2 (7,7)	2 (13,3)	0	1,85	1,28-2,67	0,21
Alteração cognitiva	5 (19,2)	4 (26,7)	1 (9,1)	1,53	0,84-2,78	0,26
<b>Óbito</b>						
Criptococose como causa	18 (90,0)	13 (92,9)	5 (83,3)	1,44	0,35-5,95	0,51

RP, razão de prevalência; IC95% intervalo de confiança; \* média (IC95%); \*\* mediana (IQR, intervalo interquartil); LCR, líquido cefalorraquidiano.

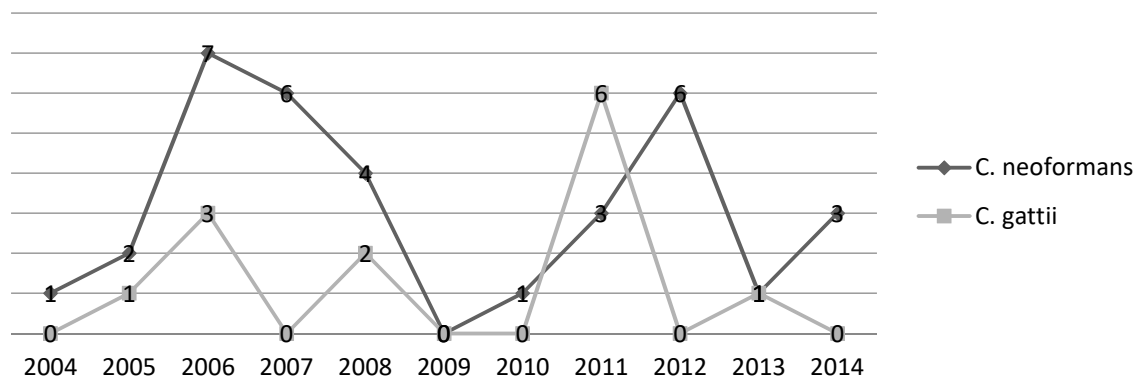
**Tabela 2 – Características dos pacientes com criptococose por tipo molecular.**

Variáveis	n (%)	VNI e VNII	VGII
		(n=37)	(n=14)
<b>Demográficas</b>			
Sexo, masculino	32 (62,7)	22 (68,7)	10 (31,3)
Cor, Branca	21 (41,2)	17 (80,9)	4 (19,1)
Moradia, urbana	40 (86,9)	30 (75,0)	10 (25,0)
<b>Comorbidades</b>			
Diabetes	1 (2,0)	1 (100,0)	0 (0,0)
Corticoterapia	1 (2,0)	1 (100,0)	0 (0,0)
Etilismo	6 (11,8)	5 (83,3)	1 (16,7)
Tuberculose	3 (5,9)	3 (100,0)	0 (0,0)
Hipertensão	3 (5,9)	1 (33,3)	2 (66,7)
Tabagismo	14 (27,4)	11 (78,6)	3 (21,4)
Hepatite	2 (3,9)	2 (100,0)	0 (0,0)
<b>Sinais e Sintomas</b>			
Febre	38 (74,5)	28 (73,7)	10 (26,3)
Êmese	34 (66,7)	23 (67,6)	11 (32,4)
Respiratórios	11 (21,6)	8 (72,7)	3 (27,3)
Oftalmológicos	11 (21,6)	9 (81,8)	2 (18,2)
Neurológicos	46 (90,2)	35 (76,1)	11 (23,9)
<b>Tratamento</b>			
Anfotericina B	35 (92,1)	27 (77,1)	8 (22,9)
Fluconazol (consolidação)	20 (86,9)	14 (70,0)	6 (30,0)
Óbito	22 (45,8)	17 (77,3)	5 (22,7)

RP, razão de prevalência; IC95%, intervalo de confiança; \* p<0,05 na análise bivariada.



**Gráfico 1 - Distribuição histórica dos casos de criptococose por espécie**



**7. DISCUSSÃO**

Neste estudo, VNI e VNII foram os tipos moleculares mais comuns, afetando principalmente os pacientes HIV positivos. A partir da identificação do primeiro caso de HIV em Singapura, o qual foi descrito em 1855, o número de casos cumulativo em Singapura diagnosticados com HIV chegou a 7140 até junho de 2016, sendo em maioria constituído por pacientes pertencentes ao sexo masculino (93%) e 74% incluídos na faixa etária entre 20 a 49 anos (SINGAPURE, 2016). A constatação que a infecção pelo HIV era a condição subjacente na maioria (90,6%) dos pacientes acometidos por criptococose reflete o aumento da infecção pelo HIV nos municípios avaliados neste trabalho.

O predomínio do sexo masculino (62,7%) é similar aos percentuais descritos em outros estudos (CHEN et al, 2000; CHAN et al, 2014), provavelmente devido à composição por gênero da população de HIV localmente, embora o aumento da exposição ambiental, influências hormonais e predisposição genética foram sugeridos como fatores adjuvantes (CHEN et al, 2000).

De forma geral os sinais e sintomas mais frequentes no grupo de pacientes com meningoencefalite criptocócica são febre, vômitos e dor de cabeça (CHAN ET al, 2014). Estes achados foram corroborados neste estudo considerando que do total de pacientes apresentando comprometimento neurológico (n=32), a maioria (n=23) apresentaram febre e vômitos. Em 1996, Darras-Jollye e colaboradores relataram que os sinais e sintomas mais frequentes em 76 pacientes infectados com o vírus HIV na França foram febre (86%) e dor de cabeça (30,2%).

Dentre os métodos utilizados para detecção das leveduras do complexo *Cryptococcus* (*C. neoformans* e *C. gattii*), o método da tinta da Índia apresentou similaridade quanto à eficácia quando considerados os dois grupos (HIV positivos (86,2%) e negativos (100%). Entretanto, no trabalho publicado por Chan et al (2014), este mesmo método mostrou-se mais eficaz para a detecção das leveduras no grupo de pacientes HIV positivos. Quando analisamos a sensibilidade do método, é possível inferir que as diferenças possivelmente encontradas em vários trabalhos, algumas vezes não concordantes possa estar não diretamente associada aos distintos grupos de pacientes (HIV positivos e negativos), mas sim a carga fúngica possivelmente presente em cada caso clínico avaliado. Em relação à cultura do líquido, 63,6% dos exames realizados por este método apresentou positividade, em concordância com os relatos de Darras-Jollye e seu grupo (1996).

Considerando os parâmetros referentes ao líquido, infelizmente não foi possível recuperar a pressão líquórica a partir dos prontuários avaliados, porém foi observado na literatura que outros autores também não o fizeram (DARRAS-JOLY et al, 1996), em contraste

com trabalhos mais recentes (CHAN et al, 2014), onde este parâmetro foi aferido, mostrando que pressão de abertura maior que 20cmH<sub>2</sub>O (valor este que reflete hipertensão intracraniana) foi constatada em 29 de um total de 50 pacientes HIV positivos e em 5 de um total de 12 HIV negativos.

Os valores referentes ao total de leucócitos, glicose e proteínas no líquido descritos por Chan et al (2014) estiveram dentro da faixa de normalidade de 33 a 58%, sendo similar a outros estudos (DARRAS-JOLY et al, 1996). Neste trabalho, foi observado que os valores referentes à glicose estiveram abaixo da faixa de normalidade (45 a 80 mg%), sendo ligeiramente menores (30,1mg%) para os pacientes HIV positivos, do que para os HIV negativos (33,7mg%). Este achado está de acordo com o esperado em casos de meningites fúngicas. Entretanto, em relação às proteínas, foi observada a condição de hipoproteinorraquia (para os dois grupos – HIV positivos e negativos), a qual geralmente pode estar associada à hipertensão intracraniana, condição clínica comumente associada às meningites fúngicas, incluindo a criptococose.

Meningite criptocócica pode ser aventada quando a maioria dos parâmetros líquóricos se apresentarem negativos ou ainda o teste para antígeno criptocócico se apresente negativo. Nestes casos, infelizmente o prognóstico é ruim (DIAMOND & BENETT, 1974, CLUMEK et al, 1989, DARRAS-JOLY et al, 1996).

Em revisão bastante recente (2017), Williamson e colaboradores relataram que a duração média expressa em semanas, desde o início dos sintomas até apresentação da meningite criptocócica é igual a duas semanas para pacientes HIV positivos e seis a doze semanas para os HIV negativos. Estes autores ainda mencionaram que ocorre o desenvolvimento de sintomas visuais, tais como: diplopia e diminuição da acuidade devido à alta pressão líquórica e/ou envolvimento do nervo óptico (MOODLEY et al, 2012). Corroborando estas observações de recente revisão publicada por este grupo, foi verificado que estiveram presentes sintomas oftalmológicos nos dois grupos de pacientes avaliados neste estudo (HIV positivos e negativos). De um total de 32 pacientes HIV positivos, 8 apresentaram sinais oftalmológicos, valor similar (6 de um total de 50 pacientes) ao registrado por Chan e colaboradores (2014). Da mesma forma, apenas 3 pacientes de um total de 19 pacientes HIV negativos exibiram os mesmos sintomas, valor também próximo ao descrito pelos mesmos autores (1 de um total de 12 pacientes HIV negativos). Interessante notar que o número total de pacientes procedentes de Mato Grosso avaliado (n=51), foi similar ao do grupo de pesquisadores de Singapura (n=62), sendo observado paralelismo entre vários parâmetros analisados.

O diagnóstico e tratamento no grupo de pacientes HIV positivos foram instituídos mais precocemente no Hospital Tan Tock Seng em Singapura em relação ao grupo de HIV negativos,

devido à consideração inicial e exame precoce para criptococose ser comumente realizado no grupo de pacientes HIV positivos. No que se refere ao tratamento, neste mesmo hospital o azólico fluconazol foi mais frequentemente utilizado para o grupo de pacientes HIV negativos, devido à predominância do comprometimento respiratório quando comparado à infecção no SNC, a qual requer tratamento com anfotericina B. Para o grupo de pacientes oriundos de Mato Grosso, a anfotericina foi a droga mais utilizada para 25 de um total de 29 pacientes HIV positivos infectados por *C. neoformans*. O fluconazol foi utilizado como consolidação do tratamento para 12 pacientes HIV positivos. Anfotericina B também foi utilizada para o tratamento de 10 de um total de 19 pacientes HIV negativos, lembrando que *C. gattii* foi mais isolado (n=11) do que *C. neoformans* (n=8) neste grupo.

A despeito dos avanços em cuidados médicos e acesso à terapia antirretroviral (HAART), não tem sido verificado decréscimo na mortalidade em paralelo.

Quando consideradas as comorbidades (diabetes, tuberculose, hepatites, hipertensão, corticoterapia) avaliadas neste estudo, foi possível observar que o número de casos tanto nos dois grupos de pacientes avaliados foi extremamente reduzido, sendo etilismo e tabagismo as mais frequentes em se tratando de pacientes HIV positivos. De forma similar, Chan et al, em 2014, relataram pequeno número de casos compreendendo doenças reumatológicas, diabetes melitus, cirrose hepática, doenças renais, e corticoterapia, porém com frequência ligeiramente superior no grupo de pacientes HIV negativos, em contraste com os achados dos hospitais mato-grossenses.

No que tange ao complexo *C. gattii*, em que pese as discussões taxonômicas atualmente acirradas envolvendo o grupo do pesquisador Hagen da Holanda, e outros de diferentes localidades mundiais (Estados Unidos, Austrália, Canada, Itália, Inglaterra, Alemanha, China e Brasil), é consenso que *C. gattii* tem progressivamente acometido pacientes HIV negativos com predomínio do tipo molecular VGII, de acordo com os resultados registrados por Chan et al (2014). Em outro estudo realizado na Malásia em 2009 por Tay, foi demonstrado que de oito isolados avaliados, metade foi caracterizado como VGI e a outra metade como VGII. Já no Sudeste da Ásia, a maioria dos isolados procedentes da Tailândia foram caracterizados como VGII (n=13) e apenas um como VGI. Estes dados são contrastantes com o Vietnam, onde a maioria dos isolados (n=12) foram classificados como VGI e apenas um foi caracterizado como VGII (TAYLOR et al, 2002). Os resultados encontrados a partir dos isolados procedentes de Cuiabá e Várzea Grande em Mato Grosso, evidenciaram o predomínio absoluto do tipo molecular VGII presente em maioria em pacientes HIV negativos, estando de acordo com outros estados brasileiros que o apontam como predominante.

Em 2014, Souto em sua dissertação de mestrado (dados ainda não publicados), avaliaram cepas de *C. gattii* preservadas na FIOCRUZ (RJ) utilizando a técnica de MLST. Das 172 cepas analisadas da Coleção de Fungos Patogênicos (CFP-IPEC), foram encontradas 111 de *C. gattii* sendo 85 identificadas como tipo molecular VGII e 26 como VGI. A análise MLST foi realizada em 85 cepas VGII, das quais 75 eram amostras de origem clínica e 10 eram de origem ambiental. As cepas foram oriundas de 4 regiões do Brasil e foram isoladas no período de 1989 a 2010, sendo 30 cepas da região Norte (AM, PA e RR), 39 da região Nordeste (PI e BA), 9 do Centro-Oeste (MS) e 7 do Sudeste (RJ e SP). Não foram encontradas amostras VGII dentre as cepas da região Sul preservadas na CFP. Estes dados reforçam o predomínio do tipo molecular VGII no Brasil, em concordância com os resultados obtidos nos hospitais mato-grossenses para os 11 isolados de *C. gattii* provenientes de pacientes HIV negativos.

A disseminação da criptococose é comum, embora o quadro de meningoencefalite seja muito frequente em pacientes HIV positivos. Do total de pacientes avaliados neste estudo (n=51), 9 apresentaram quadro disseminado revelado por positividade em hemoculturas. Já nos pacientes HIV negativos é observada heterogeneidade de sintomas clínicos, os quais são muito dependentes da resposta imune e das diferenças genéticas entre as cepas causadoras da infecção criptocócica (WILLIAMSON et al, 2017).

Anteriormente, pacientes HIV negativos saudáveis infectados por *C. neoformans* ou *C. gattii* apresentavam um curso mais crônico da meningite criptocócica, sem febre, e isso infelizmente contribuiu para o retardo do diagnóstico (WILLIAMSON et al, 2017). Nos dois grupos avaliados neste trabalho, febre constituiu um sintoma bastante frequente (presente em 38 de um total de 51 pacientes), sendo assim uma das evidências clínicas, apesar de inespecífica que suscita provável infecção e busca pelo diagnóstico laboratorial. Sequelas inflamatórias, incluindo hidrocefalia, podem estar presentes no momento do diagnóstico ou ocorrer durante o período do tratamento, e geralmente são mais registradas para *C. gattii* do que para *C. neoformans*, talvez pelo fato de que a infecção por *C. gattii* induz à secreção de altos níveis de citocinas pró-inflamatórias quando comparada a causada por *C. neoformans* (MITCHELL et al, 1995; SCHOFFELEN et al, 2013).

Cumpramos ressaltar aspectos importantes referentes ao achado observado neste trabalho quanto ao óbito tendo a criptococose como causa, e sua relação com os fatores prognósticos. Uma análise recente realizada com mais de 500 pacientes HIV positivos e meningite criptocócica confirmou os fatores associados aos prognósticos ruins, sendo os mais importantes destes a alteração do estado mental e a carga fúngica presente, representada por unidades formadoras de colônias. Adicionalmente, a resolução do processo infeccioso, o qual

depende da eficácia da resposta terapêutica e resposta imune está associada aos resultados a serem obtidos (BICANIC et al, 2009; JARVIS et al, 2014). Da mesma forma em pacientes HIV negativos a alteração do estado mental e a carga fúngica são importantes fatores prognósticos. Ainda, marcadores de resposta inflamatória pobre, tais como baixa contagem de leucócitos no líquido, ausência de dor de cabeça, neoplasias hematológicas e doenças renais têm sido associados a péssimos prognósticos (CHEN et al, 2012).

Muito recentemente (2016), Medaris e colaboradores registraram 5 casos de osteomielite tendo como agente etiológico, *C. neoformans*. Esta manifestação clínica é rara, sendo relatados por estes mesmos autores 84 casos da literatura até o momento. Esta apresentação clínica merece atenção no que se refere ao esquema terapêutico adotado (pelo menos 12 meses de tratamento), além de debridamento cirúrgico quando indicada. Alguns autores recomendam a utilização de fluconazol em monoterapia quando não houver sinais de disseminação da infecção ou doença em SNC; outras formulações lipídicas de anfotericina B e flucitosina. Nenhum dos casos de osteomielite causados por *C. neoformans* foi oriundo do Brasil, como também neste trabalho não houve nenhum registro no que se refere à esta rara apresentação da doença.

Em conclusão, as características clínicas associadas aos perfis moleculares encontradas nos dois grupos de pacientes avaliados neste estudo revela o perfil epidemiológico local e suscita a importância do conhecimento destes parâmetros, considerando que a criptococose não é doença de notificação compulsória no estado de Mato Grosso. A consolidação da rede criptococose Brasil deverá fornecer ao longo dos próximos anos dados procedentes de cada estado permitindo ao longo do tempo o conhecimento do perfil molecular global no cenário nacional, associado ao perfil clínico epidemiológico de cada serviço de saúde que a compõe.

Em que pesem as limitações atuais impostas pela ausência de recursos para o desenvolvimento de pesquisas no Brasil, é imperioso buscar implementar nos laboratórios de apoio a capacitação de profissionais para a realização do diagnóstico precoce (clínico e laboratorial), selecionando cepas para posterior identificação molecular.

## **8. CONCLUSÕES**



1. Nos dois grupos de pacientes avaliados, febre constituiu um sintoma bastante frequente, sendo assim uma das evidências clínicas, apesar de inespecífica que suscita provável infecção e busca pelo diagnóstico laboratorial.
2. O tipo molecular (VGII) associado à espécie *C. gattii* encontrado nos isolados procedentes de Mato Grosso foi idêntico aquele também circulante em outras regiões do Brasil, especialmente Norte e Nordeste.
3. A positividade verificada pelo método de cultura para fungos não pode ser considerada como padrão ouro nem pelo tempo necessário para o diagnóstico, como também pelo percentual encontrado, sendo importante reunir outras metodologias mais sensíveis para instituição da terapêutica precoce.
4. O esquema terapêutico utilizado para pacientes HIV negativos quando infectados por *C. gattii* pode ser diferente em distintos serviços, na dependência das manifestações clínicas (respiratórias ou neurológicas) observadas neste grupo de pacientes.
5. A carga fúngica de leveduras do complexo *Cryptococcus* representa parâmetro importante no que se refere à positividade do método laboratorial diagnóstico, podendo diferir em sensibilidade de acordo com a qualidade do serviço de apoio diagnóstico.
6. O perfil clínico-epidemiológico dos serviços avaliados em geral está de acordo com a literatura, apenas com pequenas diferenças no que tange aos percentuais detectados para co-morbidades, sintomas, formas clínicas presentes, provavelmente devido à carga fúngica responsável por cada quadro clínico, virulência da cepa, como também a resposta imune peculiar dos distintos pacientes.
7. A distribuição histórica das espécies aponta predomínio de *C. neoformans* em relação à *C. gattii*; entretanto vale ressaltar pico atingido (ilustrado no gráfico 1) por *C. gattii* em 2011.



Inserção dos resultados obtidos neste trabalho junto à rede criptococose Brasil coordenada pela Dra. Márcia Lazera (FIOCRUZ\_RJ), permitindo a comparação com outros centros regionais no que se refere aos tipos moleculares, perfil clínico epidemiológico e realização da técnica de MLST.

## **10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Abegg MA; Cella F; Faganello J; Valente P; Schrank A; Vainstein MH. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* isolated from the excreta of Psittaciformes in a Southern Brazilian Zoological Garden. *Mycopathologia*. 2006; 161: 83-91.
2. Akhter S; McDade HC; Gorlach JM; Heinrich G; Cox GM; Perfect JR. Role of alternative oxidase gene in pathogenesis of *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun*, 2003; 71:5794-5802.
3. Alspaugh JA; Cavallo LM; Perfect JR; Heitman J. RAS1 regulates filamentation, mating and growth at high temperature of *Cryptococcus neoformans*. *Mol Microbiol* 2000;36:352-365.
4. Andreo CMF, Machín GM, Zaragozaí MTI, Lancha MRP, Sánchez AA, Galloso MB. Sensibilidad *in vitro* de cepas de *Candida* frente a fluconazol y anfotericina B. *Rev. Cub. Med. Trop.* 2007; 59(2).
5. Anzai, et al *Cryptococcus gattii* VGII in a *Plathymenia reticulata* hollow in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil." **in press Mycoses** – (2013)
6. Barluzzi R; Brozetti A; Delfino D; Bistoni F; Blasi E. Role of the capsule in microglial cell—*Cryptococcus neoformans* interaction: impairment of antifungal activity but not of secretory functions. *Med. Mycol.* 1998; 36(4):189-197
7. Barluzzi R; Brozetti A; Delfino D; Bistoni F; Blasi E. Role of the capsule in microglial cell—*Cryptococcus neoformans* interaction: impairment of antifungal activity but not of secretory functions. *Med. Mycol.* 1998; 36(4):189-197.
8. Baroni FA; Paula CR; Silva EG; Viani FC; Rivera ING; Oliveira MTB, et al. *Cryptococcus neoformans* strains isolated from church towers in Rio de Janeiro city, RJ, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo*.2006; 48 (2): 71-75.
9. Bennett JE. Flucytosine. *Ann Intern Med* 1977; 86: 319–21.
10. Benson JM, Nahata MC. Clinical use of systemic antifungal agents. *Clin Pharm* 1988; 7: 424–38.
11. Bicanic, T. *et al.* Independent association between rate of clearance of infection and clinical outcome of HIV-associated cryptococcal meningitis: **analysis of a** *Referências* **t of** 262 patients. *Clin. Infect. Dis.* 49, 702–709 (2009).
12. Callejas A; Ordoñez N; Rodrigues MC; Castañeda E. First isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* serotype C from the environment in Colombia. *Med Mycol* 1998; 36: 341-344.

13. Calvo B; Fischman O; Castelo Filho A; Reis Filho J; Del Bianco R; Barbosa RM; Zaror L. [Detection of capsular polysaccharide antigen of *Cryptococcus neoformans* in patients with AIDS and cryptococcosis in São Paulo, Brazil]. **Rev Inst Med Trop**, Sao Paulo 1991; 33:485-490.
  
14. Campos FL; Baroni FA. 2010. Fatores virulência. Santangelo RT; Nouri-Sorkhabi MH; Sorrell TC; Cagney M; Chen SC; Kuchel PW, et al. Biochemical and functional characterisation of secreted phospholipase activities from *Cryptococcus neoformans* in their naturally occurring state. **J Med Microbiol**, 1999;48(8):731-40.
  
15. Casadevall A; Perfect JR. *Cryptococcus neoformans*. Washington; DC: American Society for Microbiology / Perfect JR, Casadevall A. The history of *Cryptococcus* and cryptococcosis., in: In Heitman J, K.T., Kwon-Chung KJ, Perfect JR, (ed), C.A. (Eds.), **Cryptococcus: from human pathogen to model yeast**. ASM Press, 2005; 17–26.
  
16. Casadevall A; Rosas AL; Nosanchuk JD. Melanin and virulence in *Cryptococcus neoformans*. **Curr Opin Microbiol**, 2000;3:354-358.
  
17. Casadevall A; Steenbergen JN; Nosanchuk JD. ‘Ready made’ virulence and ‘dual use’ virulence factors in pathogenic environmental fungi - The *Cryptococcus neoformans* paradigm. **Current Opinion in Microbiology**, 2003; 6:332–37.
  
18. Chan, M.; Lye, D; Win, M. K; Chow, A; Barkham, T. Clinical and microbiological characteristics de cryptococcosis in Singapore: predominance of *Cryptococcus neoformans* compared with *Cryptococcus gattii*. **Intern J of Infect Dis**, 2014, 26:110-115.
  
19. Chaturvedi S; Rodeghier B; FAN J. *et al.* Direct PCR of *Cryptococcus neoformans* MAT $\alpha$  and MAT $\alpha$  pheromone to determine mating type, ploidy, and variety: a tool for epidemiological and molecular pathogenesis studies. **J. Clin. Microbiol.** 2000; 38: 2007-2009.
  
20. Chen LC; Blank ES; Casadevall A. Extracellular proteinase activity of *Cryptococcus neoformans*. **Clin Diagn Lab Immunol**, 1996;3:570-574.
  
21. Chen S; Sorrell T; Nimmo G; Speed B; Currie B; Ellis D; Marriott D; Pfeiffer T; Parr D; Byth K. Australasian Cryptococcal Study Group Epidemiology and Host- and variety-dependent characteristics of infection due to *Cryptococcus neoformans* in Australia. **Referências and. Clinical Infectious Diseases**, 2000; 31: 499-508.
  
22. Chen, S. C. *et al.* Clinical manifestations of *Cryptococcus gattii* infection: determinants of neurological sequelae and death. **Clin. Infect. Dis.** 55, 789–798 (2012).

23. Clumeck N; Carael N; Van de Perre P. The African AIDS experience in contrast with the rest of the world. In: Leoung G. Mills J, eds. Opportunistic infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. **New York: Marcel Dekker**, 1989:43-56.
24. Costa SPSE; Lazera MS; Santos WRA; Morales BP; Bezerra CCF; Nishiwaka MM; ET al. First isolation of *Cryptococcus gattii* molecular type VGII and *Cryptococcus neoformans* molecular type VNI from environmental sources in the city Belem, Para, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 2009; 104 (4): 662-664.
25. Cox GM; McDade HC; Chen SC; Tucker SC; Gottfredsson M; Wright LC; Sorrell TC; Leidich SD; Casadevall A; Ghannoum MA; Perfect JR. Extracellular phospholipase activity is a virulence factor for *Cryptococcus neoformans*. **Mol Microbiol**, 2001;39: 166-175.
26. Darras-Joly C, Chevret S, Wolff M, et al. *Cryptococcus neoformans* infection in France: epidemiologic features of and early prognostic parameters for 76 patients who were infected with human immunodeficiency virus. **Clin Infect Dis**. 1996;23:369-376.
27. Denning DW; Stevens DA; Hamilton JR. Comparison of *Guizotia abyssinica* Seed Extract (Birdseed) Agar with Conventional Media for Selective Identification of *Cryptococcus neoformans* in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. **J. Clin. Microbiol**. 1990; 28(11):2565-2567.
28. Diamond RD; Bennett JE. Prognostic factors in cryptococcal meningitis: a study in III cases. **Ann Intern Med**, 1974;80:176--81.
29. Diasio RB; Lakings DE; Bennett JE. Evidence for the conversion of 5-fluorocytosine to 5-fluorouracil in humans: possible factor in 5-fluorocytosine clinical toxicity. **Antimicrob Agents Chemother**, 1978; 14:
30. Ellis D; Marriott D; Hajjeh RA; Warnock D; Meyer W; Barton R. Epidemiology: surveillance of fungal infections. **Med Mycol**, 2000. 38:173–182.
31. Ellis DH; Pfeiffer TJ. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. **J Clin Microbiol** 1990; 28:1642-1644.
32. Feldmesser M; Kress Y; Novikoff P; Casadevall A. *Cryptococcus neoformans* is a facultative intracellular pathogen in murine pulmonary infection. **Infect Immun**, 2000; 68:4225-4237.
33. Filippin FB; Souza LC. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Braz. J. Pharmaceut. Scienc**, 2006; 42(2):167-194.

34. Filiu WFO; Wanke B; Agüena SM, Vilela VO; Macedo RCL; Lazera M. Cativoiro de aves como fonte de *Cryptococcus neoformans* na cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Rev Soc Bras MedTrop**, 2002; 35: 591-595.
35. Fortes ST; Lazera MS; Nishikawa MM; Macedo RCL; Wanke B. First isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from a native jungle tree in the Brazilian Amazon rainforest. **Mycoses**, 2001; 44:137-140.
36. Franzot SP; Hamdan JS; Currie BP; Casadevall A. Molecular epidemiology of *Cryptococcus neoformans* in Brazil and the United States: evidence for both local genetic differences and a global clonal population structure. **Journal of Clinical Microbiology** 1997;2243-2251.
37. Franzot SP; Salkin LF; Casadevall A. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* separate status for *C. neoformans* serotype A isolates. **J. Clin. Microbiol**, 1999; 37:838-840.
38. Fraser JA; Subaran RL; Nichols CB; Heitman J. Recapitulation of the sexual cycle of the primary fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*: implications for an outbreak on Vancouver Island, Canada. **Eukaryot Cell**, 2003; (2)1036-1045.
39. Goldman DL; Khine H; Abadi J; Lindenberg DJ; Pirofski LA; Niang R; Casadevall. A Serologic evidence for *Cryptococcus neoformans* infection in early childhood. **Pediatrics**, 2001; 107:E66.
40. Groll AH; Kolve H. Antifungal agents: in vitro susceptibility testing, pharmacodynamics, and prospects for combination therapy. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis** 2004; 23: 256-70.
41. Guidelines in Cryptococcosis – 2008 - Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 41(5):524-544, set-out, 2008.
42. Gupta AK; Kohli, Sauder DN; Shear NH. Antifungal agents: an overview. **J. Am.Acad. Dermatol.**1994; 30(1): 677-98.
43. Hagen F; Khayhan K; Theelen B; Kolecka A; Polacheck I; Sionov E; Falk R; Parmen S; Lumbsch HT; Boekhout T. Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. **Fungal Genet Biol**, 2015.78:16–48.
44. Harris BE; Manning BW; Federle TW et al. Conversion of 5-fluorocytosine to 5-fluorouracil by human intestinal microflora. **Antimicrob Agents Chemother**, 1986; 29: 44–8.
45. Hogan LH; Klein BS; Levitz SM. Virulence Factors of Medically Important Fungi. **Clin Microbiol Reviews**, 1996; 9(4):469–488.



46. Horta JA; Staats CC; Casali AK; Ribeiro AM; Schrank IS; Schrank A, et al. Epidemiological aspects of clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* isolates in the Brazilian state Rio Grande do Sul. **Med Mycol**, 2002; 40: 565-571.
47. Jarvis JN; Harrison TS. **HIV-associated cryptococcal meningitis. AIDS 2007**; 21:2119, 2007.
48. Jarvis, J. N. *et al.* Determinants of mortality in a combined cohort of 501 patients with HIV-associated cryptococcal meningitis: implications for improving outcomes. **Clin. Infect. Dis.** 58, 736–745 (2014).
49. Jongwutiwes U; Sungkanuparph S; Kiertiburanakul S. Comparison of clinical features and survival between cryptococcosis in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-positive and HIV-negative patients. **Jpn J Infect Dis**, 2008; 61: 111-115
50. Karkowska-Kuleta J; Rapala-Kozik M; Kozik A. Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. **Acta Bioch Polonica**, 2009;56: 211-224.
51. Kraus PR; Fox DS; Cox GM; Heitman J. The *Cryptococcus neoformans* MAP kinase Mpk1 regulates cell integrity in response to antifungal drugs and loss of calcineurin function. **Mol Microbiol**, 2003; 48:1377-1387.
52. Kwon-Chung KJ; Bennett JE; Rhodes JC. Taxonomic studies on *Filobasidiella* species and their anamorphs. **Antonie van Leeuwenhoek**, 1982; 48: 25-38.
53. Kwon-Chung KJ; Bennett JE. Cryptococcosis. In: **Medical Mycology**, Lea & Febiger, Philadelphia. Ed. Philadelphia, 1992:392-446.
54. Kwon-Chung KJ; Varma SA. Do major species concepts support one, two or more species within *Cryptococcus neoformans*? **FEMS Yeast Res** 2006; (6):574-587.
55. Kwon-Chung KJ; Polacheck I; Bennett JE. Improved diagnostic Medium for Separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (Serotypes A and **Referências** *ccus neoformans* var. *gattii* (Serotypes B and C). **J. Clin. Microbiol.** 1982;15 (3):555-557.
56. Lacaz CS; Porto E; Martins JEC; Heins-Vaccari EM; Melo NT. **Criptococose. In: Tratado de Micologia Médica.** 9.ed. São Paulo: Sarvier; 2002;416-435.
57. Lazéra MS; Cavalcanti MAS; Londero AT; Trilles L; Nishikawa MM; Wanke B. **Possible primary ecological niche of *Cryptococcus neoformans*.** *Med Mycol*, 2000; 38: 379-383.

58. Lazéra MS; Cavalcanti MAS; Trilles L; Nishikawa MM; Wanke B. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* - evidence for a natural habitat related to decaying wood in a pottery tree hollow. **Medical Mycology**, 1998;36:119-122.
59. Lazera MS; Gutierrez Galhardo MC; Cavalcanti MAS; Wanke B. Criptococose. In: Coura, José Rodrigues. (Org.). **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 1. ed. Rio de Janeiro, 2005, v. II, p. 1223-1235.
60. Lazéra MS; Pires FDA; Camillo-Coura L; Nishikawa MM; Bezera CCF; Trilles L, Wanke B. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* in decaying wood forming hollows in living trees. **J Med Vet Mycol**, 1996; 4:127-131.
61. Lazera MS; Wanke B; Nishiwaka MM. Isolation of both varieties of *Cryptococcus neoformans* from saprophytic in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **J Vet Med Mycol**.1993; 31: 449-454.
62. Levitz SM. Receptor-mediated recognition of *Cryptococcus neoformans*. **Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi**, 2002;43:133-136.
63. Licea BA; Garza DG; Zúñiga MT. Aislamento de *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* de *Eucalyptus tereticornis*. **Rev Iberoam Micol**, 1996; 13: 27-28.
64. Lifson AR; Rhame FS; Belloso WH; Dragsted UB; EL-SADR WM; Gatell JM. Reporting and evaluation of HIV-related clinical endpoints in two multicenter international clinical trials. HIV. **Clinical Trials**, 2006;7,:125-141.
65. Lin X; Heitman J. The biology of the *Cryptococcus neoformans* species complex. **Annual Review of Microbiology**, 2006; 8:69-105.
66. Lin X; Heitman J. The biology of the *Cryptococcus neoformans* species complex. **AnnRev Microbiol**, 2006; 60: 69-105.
67. Loyse A; Dromer F; Day J; Lortholary O; Harrison TS. Flucytosine and cryptococcosis: time to urgently address the worldwide accessibility of a 50-year-old antifungal. **J Antimicrob Chemother**, 2013; 68:2435–2444.
68. Lozano-Chiu M; Paetznick VL; Ghannoum MA; Rex JH. Detection of resistance to amphotericin B among *Cryptococcus neoformans* clinical isolates: performances of three different media assessed by using E-test and National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A methodologies. **J Clin Microbiol**, 1998;36:2817-22. **Referências**

69. Martinez R; Castro G; Moya MJ; Quaglio AS; Figueiredo JFC; Machado AA, et al. Anfotericina B lipídica como terapia seqüencial da anfotericina B convencional: redução da toxicidade sem perda da eficácia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 1998; 31(1):127-7.
70. Martinez R. Atualização no uso de agentes antifúngicos. **J. Bras. Pneumol**, 2006; 32(5):449-460.
71. Medaris LA, Ponce B, Hyde Z, et al. Cryptococcal osteomyelitis: a report of 5 cases and a review of the recent literature. **Mycoses.** 2016; 59(6):334-342.
72. Meyer W and Trilles L. Genotyping of the *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii* Species Complex. **Australian Biochemist**, 2010(41); 12-15.
73. Mitchell DH; Sorrell TC; Allworth AM; Heath CH; McGregor AR; Papanoum K; Richards MJ; Gottlieb T. Cryptococcal disease of the CNS in immunocompetent hosts: influence of cryptococcal variety on clinical manifestations and outcome. **Clin Infect Dis** 1995; 20:611-616.
74. Mitchell TG; Perfect JR. Cryptococcosis in the era of AIDS--100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. **Clin Microbiol Rev**, 1995; 8:515-548
75. Moodley, A. *et al.* **Early clinical and subclinical visual evoked potential and Humphrey's visual field defects in cryptococcal meningitis.** PLoS ONE 7, e52895 (2012).
76. Moretti ML; Resende MR; Lazéra MS; Colombo AL; Shikanai-Yasuda MA. [Guidelines in cryptococcosis--2008]. **Rev Soc Bras Med Trop**, 2008; 41, 524-544.
77. Moysés NM; Figueiredo JM. Terapêutica das micoses profundas em pacientes transplantados renais. **J Bras Nefrol**, 1996;18:369-374.2
78. Pappalardo MCSM; Melhem MSC. Cryptococcosis: a review of th **Referências** nce for the disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de SãoPaulo.**2003;45:299-305.
79. Park BJ; Wannemuehler KA; Marston BJ; Govender N; Pappas PG; Chiller TM. **Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS.**AIDS 2009; 23:525-530.
80. Pedroso RS; Costa KRC; Ferreira JC; Candido RC. Evaluation of melanin production by *Cryptococcus* species in four different culture media. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 2007; 40(5):566-568.

81. Perkins A; Gomez-Lopez A; Mellado Rodriguez-Tudela EJJ; Cuenca-Estrella M. Rates of antifungal resistance among Spanish clinical isolates of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 2005; 56:1144-1147.
82. Peter R; Williamson PR; Jarvis JN; Panackal AA; Fisher, MC; Molloy SF; Loyse, A; Harris TS. Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. **Nature Reviews Neurology**. 2017; 13:13-24.
83. Pinto Junior VL; Galhardo MCG; Lazéra MS; Wanke B; Reis RS e Perez M. Criptococose associada à AIDS. A importancia do cultivo da urina no seu diagnóstico. **Rev.Soc. Bras. Med. Trop**, 2006: 39(2): 230-232.
84. Polacheck VJ; Kwon-Chung KJ. Biochemical studies of phenoloxidase and utilization of catecholamines in *Cryptococcus neoformans*. **J. Bacteriol.** 1982; 150: 1212-1220
85. Polak A; Scholer HJ. Mode of action of 5-fluorocytosine. **Rev Inst Pasteur Lyon**, 1980; 13: 233-44.
86. Randhawa HS; Kowshik T; Khan ZU. Decayed wood of *Syzygium cunini* and *Ficus religiosa* living trees in Delhi/New Delhi metropolitan area as natural habitat of *Cryptococcus neoformans*. **Medical Mycology**, 2003; 41(3):199-209.
87. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. Farmacologia. 6 ed. São Paulo-SP: Elsevier; 2007 p.692-697.
88. Reolon A; Perez LRR; Mezzari A. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **J Bras Patol Med Lab**. 2004; 40 (5): 293-298
89. Rosas AL; Casadevall A. Melanization affects susceptibility of *Cryptococcus neoformans* to heat and cold. **FEMS Microbiol Lett**, 1997;153, 265-272.
90. Rozenbaum R; Gonçalves AJR. Clinical epidemiological studies of cryptococcosis. **Referências** **Clinical Infectious Disease**, 1994;18:369-380.
91. Saag MS; RJ Graybill RA; Larsen PG; Pappas JR; Perfect WG; Powderly JD. Sobel WE. Dismukes, and Infectious Diseases Society of America. Practice guidelines for the management of cryptococcal disease. **Clin. Infect. Dis.** 2000; 30:710-718
92. Salas SD; Bennett JE; Kwon-Chung KJ; Perfect JR; Williamson PR. Effect of the laccase gene CNLAC1, on virulence of *Cryptococcus neoformans*. **J Exp Med**, 1996; 184: 377-386.

93. Sanchez ML; Jones RN. E-test, an antimicrobial susceptibility testing method with broad clinical and epidemiology application. **Antimicrob. News**, 1992; 8: 1-7.
94. Santangelo RT; Nouri-Sorkhabi MH; Sorrell TC; Cagney M; Chen SC; Kuchel PW, et al. Biochemical and functional characterisation of secreted phospholipase activities from *Cryptococcus neoformans* in their naturally occurring state. **J Med Microbiol**, 1999; 48(8):731-40.
95. Sar B; Monchy D; Vann M, et al. Increasing in vitro resistance to fluconazole in *Cryptococcus neoformans* Cambodian isolates: April 2000 to March 2002. **J Antimicrob Chemother**, 2004;54:563-5.
96. Singapore. **Ministry of Health**. Ano, 2016. Disponível em: [https://www.moh.gov.sg/content/moh\\_web/home/statistics/infectiousDiseasesStatistics/HIV\\_S tats/update-on-the-hiv-aids-situation-in-singapore-20141.html](https://www.moh.gov.sg/content/moh_web/home/statistics/infectiousDiseasesStatistics/HIV_S tats/update-on-the-hiv-aids-situation-in-singapore-20141.html)
97. Schoffelen, T. *et al.* *Cryptococcus gattii* induces a cytokine pattern that is distinct from other cryptococcal species. **PLoS ONE** 8, e55579 (2013).
98. Sorrel TC. *Cryptococcus neoformans* variety *gattii*. **Medical Mycology** 2001;39(2):155-168.
99. Souza LKH; Fernandes OFL; Kobayashi CCBA; Passos XS; Costa CR; Lemos JÁ; Souza-Júnior AH; Silva MRR. Antifungal susceptibilities of clinical and environmental isolates of *Cryptococcus neoformans* in Goiânia City, Goiás, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 2005; 47: 253-256.
100. Sukroongreung S; Kitiniyom K; Nilakul C; Vanich ST. Pathogenicity of basidiospores of *Filobasidiella neoformans* var. *neoformans*. **Méd Mycol** 1998; 36: 419-424.
101. Takahara DT. **Isolamento e identificação de leveduras do complexo *Cryptococcus* a partir de excretas de pombos provenientes de locais públicos e residenciais de Cuiabá e Várzea– MT**. Dissertação de Mestrado, Laboratório de Investigação/Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso (Cuiabá-MT), 2011.
102. Tay ST. Epidemiology of cryptococcosis in Malaysia. **Mycoses**, 2009;53:509–14.
103. Taylor MB, Chadwik D, Barkham T. First reported isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from a patient in Singapore. **J Clin Microbiol**. 2002; 40:3098-3099.
104. Vaishnav VV; Bacon BE; O'Neill M; Cherniak R. **Structural characterization of the galactoxylomannan of *Cryptococcus neoformans*** Cap. 67. Carbohydr Res 1998; 306:315-330.

105. Vermes A; Kuijper EJ; Guchelaar HJ; Dankert J. An in vitro study on the active microflora. **Chemotherapy**, 2003; 49: 17–23.
106. Vidotto V; Sinicco A; Di Faria D; Cardaropoli S; Aok S; Ito-Kuwa S. Phospholipase activity in *Cryptococcus neoformans*. **Mycopathologia** 1996;136: 119-123.
107. Vos P; Hogers R; Bleeker M; Reijans M; Van de Lee T; Hornes M; Frijters A; Pot J, Peleman J; Kuiper M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Res** 1995;23:4407-4414.
108. Wang Y; Aisen P; Casadevall A. *Cryptococcus neoformans* melanin and virulence: mechanism of action. **Infect Immun** 1995;63:3131-3136.
109. Wanke B; Lázera MS; Monteiro PCF; Londero AT. **Micologia Médica**. [Apostila Fiocruz] – Rio de Janeiro, 2006.
110. Willianson PR, Jarvis JN, Panackal MCF, et al. Cryptococcal meningitis: epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. **Nat. Rev. Neurol.** 2017; 13:13-24.



## 11.1 Ficha Epidemiológica

## CRIPTOCOCOSE

Bloco 1- Identificação					
Unidade de Origem*:		Registro:		Data de abertura*:	
Nome*:				Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F	
Naturalidade:	Nascimento: ____/____/____	Idade:		Cor: <input type="checkbox"/> B <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> V <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> IGN	
Endereço:					
Bairro:		Cidade*:		Tel.:	
Bloco 2- Dados Epidemiológicos					
Doença de Base*	<input type="checkbox"/> Aids <input type="checkbox"/> Diabetes <input type="checkbox"/> Neoplasia <input type="checkbox"/> Corticosteróide <input type="checkbox"/> Alcoolismo <input type="checkbox"/> Tuberculose <input type="checkbox"/> Gravidez <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> IGN <input type="checkbox"/> Outro:				
Área de Moradia:	<input type="checkbox"/> Urbana <input type="checkbox"/> Rural		Local de Nascimento:		
Ocupação atual:			Ocupação anterior:		
Viagens (locais):					
Bloco 3 – Episódio* [ ] data: ____/____/____					
Início das manifestações*:    /    /    Data do diagnóstico*:    /    /					
<input type="checkbox"/> Febre	<input type="checkbox"/> Cefaléia	<input type="checkbox"/> Vômitos	<input type="checkbox"/> Convulsão	<input type="checkbox"/> Fotofobia	<input type="checkbox"/> Déficits focais
<input type="checkbox"/> Visão dupla	<input type="checkbox"/> Estrabismo	<input type="checkbox"/> Alt. consciência	<input type="checkbox"/> Glasgow	<input type="checkbox"/> Rigidez de nuca	<input type="checkbox"/> Visceromegalias
<input type="checkbox"/> Tax:	<input type="checkbox"/> PA	<input type="checkbox"/> FC	<input type="checkbox"/> FR	<input type="checkbox"/> Kernig/Brudzinsk 1	<input type="checkbox"/> Adenomegalias
<input type="checkbox"/> Lesão pulmonar (descrever): _____					
Punção Lombar*: <input type="checkbox"/> Realizada <input type="checkbox"/> Não realizada					
Data:    /    /		Registro no Laboratório _____		Aspecto: <input type="checkbox"/> Claro <input type="checkbox"/> Turvo <input type="checkbox"/> Hemorrágico <input type="checkbox"/>	
Xantocômico					
Celularidade	PMN	Mono	Glicose	Proteína	Hemácias



Exames Micológicos e sorológicos					
Hemocultura	<input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR	Cepa (nº):	Escarro	<input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR	Cepa (nº):
LCR Cultivo	<input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR	Cepa (nº):	Urina Nanquim	<input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR	
LCR Nanquim	<input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR		Urina Cultivo NSA	<input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR	Cepa (nº):
LCR Látex	<input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR		Tecido Nanquim	<input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR	
			Tecido Cultivo	<input type="checkbox"/> P <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> NR	Cepa (nº):
Tratamento e desfecho*					
Início da Indução	Droga	Suspensão	Motivo	Data	Dose Total de AMB
/ /	<input type="checkbox"/> AMB <input type="checkbox"/> Fluco	<input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não		/ /	Mg
Início da Consolidação	Droga:				
/ /	<input type="checkbox"/> Fluconazol <input type="checkbox"/> Outra:				
<input type="checkbox"/> Alta hospitalar (data):		Causa do óbito:		Remissão dos sintomas clínicos (data):	
<input type="checkbox"/> Óbito (data):		<input type="checkbox"/> Cripto <input type="checkbox"/> Outra			
<input type="checkbox"/> Perda de segmento ambulatório					
Seqüelas: <input type="checkbox"/> Perda parcial ou total da visão <input type="checkbox"/> Hidrocefalia <input type="checkbox"/> Dificuldade de marcha <input type="checkbox"/> Déficit motor <input type="checkbox"/> Alteração cognitiva <input type="checkbox"/> Outro:					

\* Campos de preenchimento obrigatório

Preenchido por:

Data:

Ass.:

## 11.2 Aprovação do Comitê de ética

Ministério da Educação  
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JÚLIO MÜLLER

**Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Júlio Müller**  
Registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa em 25/08/97

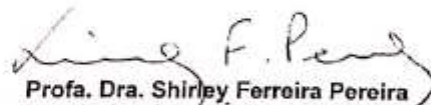
### TERMO DE APROVAÇÃO ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA

REFERÊNCIA: Projeto de protocolo Nº 888/CEP- HUJM/2010

- "COM PENDÊNCIAS"
- APROVADO "ad referendum"
- APROVAÇÃO FINAL
- NÃO APROVADO

O projeto de pesquisa intitulado: "Caracterização molecular e susceptibilidade in vitro de isolados clínicos de *Cryptococcus Gattii* e *Cryptococcus Neoformans* em Cuiabá e Várzea Grande, MT," encaminhada pelo (a) pesquisador (a) *Olivia Cometti Favalessa* foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM, em reunião realizada dia 10/11/2010 que concluiu pela aprovação final, tendo em vista que atende a Resolução CNS 196/96 do Ministério da Saúde para pesquisa envolvendo seres humanos.

Cuiabá, 10 de Novembro de 2010.



**Prof. Dra. Shirley Ferreira Pereira**  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa do HUJM