



UFG

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

ANGELICA LIMA DE BASTOS

**ASPECTOS CLÍNICOS-EPIDEMIOLÓGICOS DA
CRIOCOCOSE NO ESTADO DE GOIÁS**

**Goiânia
2017**

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

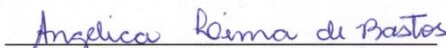
Nome completo do autor: Angelica Lima de Bastos

Título do trabalho: Aspectos clínicos-epidemiológicos da criptococose no estado de Goiás

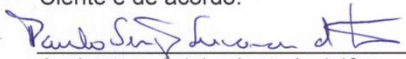
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ **SIM** ☐ **NÃO**¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:


Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 12/ 12 / 2017

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.

ANGELICA LIMA DE BASTOS

**ASPECTOS CLÍNICOS-EPIDEMIOLÓGICOS DA
CRIOPTOCOCOSE NO ESTADO DE GOIÁS**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade
Federal de Goiás para obtenção do
Título de Mestre em Ciências da
Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio
Sucasas da Costa

**Goiânia
2017**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Bastos, Angelica Lima de
Aspectos clínicos-epidemiológicos da criptococose no estado de
Goiás [manuscrito] / Angelica Lima de Bastos. - 2017.
xviii, 80 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás,
Faculdade de Medicina (FM), Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde, Goiânia, 2017.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de
figuras, lista de tabelas.

1. Criptococose. 2. Epidemiologia. 3. Infecções por HIV. I. Costa,
Paulo Sérgio Sucasas da, orient. II. Título.

CDU 614

Ata de Defesa de Dissertação de Mestrado realizada por **Angelica Lima de Bastos**. Aos onze dias do mês de dezembro de 2017, às 08:00 horas, reuniu-se na Sala 05 – Faculdade de Medicina/UFG, a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder ao julgamento da Defesa de Dissertação de Mestrado intitulada “Aspectos clínicos-epidemiológicos da criptococose no estado de Goiás”, como parte de requisitos necessários à obtenção do título de Mestre, área de concentração **Patologia, Clínica e Tratamento das Doenças Humanas**. O Presidente da Comissão julgadora, **Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa**, iniciando os trabalhos concedeu a palavra a candidata, para exposição em até 50 minutos do seu trabalho. A seguir, o senhor Presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos Examinadores, os quais passaram a arguir a candidata durante o prazo máximo de 30 minutos, assegurando-se a mesma igual prazo para responder aos Senhores Examinadores. Ultimada a arguição que se desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando a candidata aprovado(a) ou reprovado(a).

Banca Examinadora

Aprovado(a)/Reprovado(a)

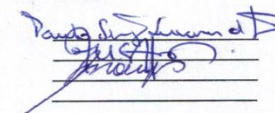
Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa - Presidente
Profa. Dra. Lúcia Kioko Hasimoto e Souza - Membro
Prof. Dr. Solomar Martins Marques - Membro
Profa. Dra. Lusmaia Damaceno Camargo Costa - Suplente

Aprovado
Aprovado
Aprovado

Em face do resultado obtido, a Comissão Julgadora considerou a candidata **Angelica Lima de Bastos** ☒ Habilitada () Não habilitada. Nada mais havendo a tratar, eu, **Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa**, lavrei a presente ata que, após lida e achada conforme foi por todos assinada.

Assinatura:

Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa - Presidente
Profa. Dra. Lúcia Kioko Hasimoto e Souza - Membro
Prof. Dr. Solomar Martins Marques - Membro
Profa. Dra. Lusmaia Damaceno Camargo Costa - Suplente



A banca examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação:


Angelica Lima de Bastos

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluna: Angelica Lima de Bastos

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa

Membros:

1. Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa (FM/UFG)

2. Prof^a Dr^a Lúcia Kioko Hasimoto e Souza (IPTSP/UFG)

3. Prof. Dr. Solomar Martins Marques (FM/UFG)

Suplente

4. Prof^a Dr^a Lusmaia Damaceno Camargo Costa (FM/UFG)

Data: 11/12/2017

*Dedico este trabalho às minhas
filhas Ana Luísa e Amanda, que apesar
da tenra idade, compreenderam com
maturidade meus dias de ausência
durante essa jornada. Amo vocês.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, o SENHOR da minha vida, por mais essa oportunidade e conquista. Sua presença, renovou minhas forças a cada dia nessa caminhada e por isso consegui chegar até aqui. Toda honra seja dada ao Seu Nome!

Às minhas filhas, Ana Luísa e Amanda, doces companheiras e minha maior riqueza.

Aos meus pais, Wilmar e Francisca, pelo apoio e amor durante toda a minha vida.

À minha irmã Andréia, que mesmo distante fisicamente, sempre me estimulou a prosseguir.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa pela oportunidade, apoio e confiança.

À Prof^a Dr^a Márcia dos Santos Lazéra e a Dr^a Luciana Trilles da FIOCRUZ-RJ pela ajuda na elaboração do projeto.

Ao Prof. Dr. Solomar Martins Marques e a Prof^a Dr^a Lúcia Kioko Hasimoto e Souza da UFG pelas valiosas contribuições durante a fase de qualificação do mestrado.

À equipe da Seção de Micologia do LACEN-GO, Maria Tânia, Charley, Gabriela, Kelly, Nara e Andrea, a habilidade técnica de vocês está impressa em muitas dessas páginas. À todos, saudações micelianas!

Ao Prof. Dr. João Alves de Araújo Filho e a Dr^a Cássia Silva de Miranda Godoy do HDT pelo incentivo e auxílio na análise dos prontuários.

Ao Bruno Gomes Ferreira da Tecnologia da Informação do LACEN-GO pela grande ajuda na formatação do trabalho. A análise microscópica ainda me parece mais simples que algumas funções do computador.

À equipe do arquivo médico do HDT pelo desprendimento e paciência na seleção dos prontuários.

À UFG e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde pela oportunidade concedida.

SUMÁRIO

FIGURAS	X
TABELAS	XIII
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	XV
RESUMO	XVIII
ABSTRACT	XVIII
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 CRIPTOCOCOSE – CARACTERÍSTICAS GERAIS	1
1.2 EPIDEMIOLOGIA.....	2
1.3 ASPECTOS HISTÓRICOS DA CRIPTOCOCOSE E DOS AGENTES ETIOLÓGICOS	4
1.4 AGENTES ETIOLÓGICOS DA CRIPTOCOCOSE	8
1.4.1 TAXONOMIA E TIPOS MOLECULARES.....	8
1.4.2 Ecologia	9
1.4.3 Morfologia e características bioquímicas	10
1.4.4 Fatores de virulência.....	11
1.4.4.1 Cápsula polissacarídica	12
1.4.4.2 Melanina.....	14
1.4.4.3 Crescimento a 37°C	15
1.4.4.4 Produção de enzimas.....	16
1.4.4.5 <i>Mating type</i>	17
1.4.5 Ciclo de vida.....	18
1.5 PATOGENIA	20
1.5.1 Formas clínicas e sintomatologia	22
1.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	24
1.6.1 MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS	24
1.6.1.1 Exame microscópico direto	24
1.6.1.2 Cultura e testes bioquímicos	25
1.6.2 Métodos histopatológicos.....	28
1.6.3 Métodos imunológicos.....	29
1.6.4 Métodos moleculares	29
1.7 TRATAMENTO.....	30

2 JUSTIFICATIVA	32
3 OBJETIVOS.....	33
4 MÉTODOS.....	34
4.1 TIPO DE ESTUDO.....	34
4.2 LOCAL E PERÍODO	34
4.3 SUJEITOS DA PESQUISA.....	34
4.4 PROCEDIMENTOS PARA COLETA DE DADOS	35
4.5 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS	36
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	37
4.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	37
5 RESULTADOS	39
6 DISCUSSÃO.....	50
7 CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS	61
APÊNDICES E ANEXOS.....	75

Figura 1. Representação esquemática dos constituintes da célula de *Cryptococcus* spp.

.....10

Figura 2. Microscopia óptica comum (objetiva de imersão) de células de criptococos submersas em formol utilizado para conservar espécime cerebral. Esfregaços confeccionados e corados respectivamente pela tinta da China (tinta Nanquim) e Grocott evidenciando espessas cápsulas circundando as células leveduriformes.

.....12

Figura 3. Microscopia eletrônica de células de criptococos de criptococoma cerebral, conservado em formol cerca de 30 dias. A cápsula polissacarídica aparece como finíssimas fibrilas em disposição radial, inseridas na superfície externa da parede celular e se rarefazem gradualmente à medida que se afastam da célula.13

Figura 4. Via biossintética da melanina a partir de L-DOPA em *C. neoformans* e *C.gattii*.

.....14

Figura 5. Representação esquemática do ciclo de vida de *Cryptococcus*. A reprodução sexual ocorre normalmente a partir da fusão de duas células de *mating types* opostos, MATa e MATα. Após a fusão, ocorre a formação de uma hifa dicariótica, cuja extremidade é gerado o basídio, que sofre meiose, resultando na produção de basidiósporos de ambos *mating types*. Na frutificação monocariótica, células do mesmo *mating type* sofrem diploidização, formando uma hifa monocariótica diploide que após meiose, produz basidiósporos de mesmo *mating type*. Os basidiósporos gerados em

ambos os processos vão para o ambiente e em condições favoráveis, germinam, dando origem às células leveduriformes.19

Figura 6. Representação esquemática da patogenia da criptococose.21

Figura 7. Exame direto de líquido cefalorraquidiano com tinta nanquim, evidenciando criptococos com cápsulas de espessuras variadas em microscopia óptica comum (40x).24

Figura 8. Colônias de *C. gattii* e *C. neoformans* de amostras clínicas em ágar Sabouraud.25

Figura 9. Colônias de *C. neoformans* de amostra clínica e controle negativo - *Candida albicans* ATCC 10231 (da sigla em inglês *American Type Culture Collection*) em NSA.25

Figura 10. Isolado clínico de *C. neoformans*-urease positivo e controle negativo - *Candida albicans* ATCC® 10231 em ágar ureia de Christensen. .26

Figura 11. Método automatizado - Sistema Vitek® 2 Compact da Biomérieux de assimilação de carboidratos para *Cryptococcus*.26

Figura 12. *C. neoformans* e *C. gattii* de amostras clínicas em meio CGB. ..27

Figura 13. Representação esquemática das etapas dos procedimentos laboratoriais realizados.35

Figura 14. Diagrama de fluxo das etapas de busca e de elegibilidade de registros laboratoriais e prontuários médicos no LACEN-GO e HDT/HAA.
..38

Figura 15. Tempo transcorrido entre o aparecimento de sintomas relacionados à criptococose e o atendimento no HDT/HAA.
.....41

Figura 16. Doenças definidoras de aids em pacientes com criptococose.
...43

Figura 17. Relação de coinfeções em pacientes HIV positivos com criptococose.44

Figura 18. Relação de coinfeções em pacientes HIV negativos com criptococose.44

Figura 19. Comparação entre as datas de diagnóstico do HIV e da criptococose em pacientes sem relato de uso de TARV.....46

Figura 20. Evolução clínica dos pacientes.....47

Figura 21. Sequelas em pacientes que receberam alta hospitalar após tratamento da criptococose.....47

Tabela 1. Classificação das principais espécies de *Cryptococcus* spp.9

Tabela 2. Dados demográficos de pacientes com criptococose no estado de Goiás, de acordo com infecção pelo HIV.40

Tabela 3. Fatores de risco em pacientes com criptococose do estado de Goiás, de acordo com infecção pelo HIV.41

Tabela 4. Sintomatologia de pacientes com criptococose do estado de Goiás, de acordo com infecção pelo HIV.42

Tabela 5. Forma clínica da criptococose de pacientes do estado de Goiás, de acordo com infecção pelo HIV.43

Tabela 6. Espécies de *Cryptococcus* envolvidas nos casos de criptococose de Goiás, de acordo com infecção pelo HIV.45

APÊNDICES E ANEXOS

APÊNDICE A	Ficha do Paciente.....	73
APÊNDICE B	Dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	75
ANEXO A	Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás.....	76
ANEXO B	Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Doenças Tropicais Dr. Anuar Audad.....	78
ANEXO C	Comprovante de submissão do artigo científico.....	80

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

®	Marca registrada
µm	Micrômetro
ABLC	Complexo lipídico de anfotericina B
Aids	Síndrome da imunodeficiência adquirida (do inglês <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>)
AFLP	Polimorfismo de tamanho de fragmentos amplificados (do inglês <i>Amplified Fragment Length Polymorphism</i>)
AmB	Anfotericina B
AmB-D	Anfotericina B desoxicolato
ASD	Ágar Sabouraud-dextrose
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BHI	Infuso coração-cérebro (do inglês <i>brain heart infusion</i>)
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CGB	L-canavanina, glicina e azul de bromotimol
CNA1	Gene calcineurina A de <i>C. neoformans</i>
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CrAg LFA	Ensaio de fluxo lateral de antígeno criptocócico (do inglês <i>Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay</i>)
DEAM	Divisão de Estatística e Arquivo Médico
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPOC	Doença pulmonar obstrutiva crônica
EUA	Estados Unidos da América
5-FC	5-Flucitosina

FZ	Fluconazol
GAL	Gerenciador de Ambiente Laboratorial
HDT/HAA	Hospital de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad
HIV	Vírus da imunodeficiência humana (do inglês <i>human immunodeficiency virus</i>)
IDSA	Sociedade Americana de Doenças Infecciosas (do inglês <i>Infectious Diseases Society of America</i>)
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
LACEN-GO	Laboratório Central de Saúde Pública de Goiás Dr. Giovanni Cysneiros
L-AmB	Anfotericina B lipossomal
MATa	<i>Mating type a</i>
MAT α	<i>Mating type α</i>
MLST	Tipagem por sequenciamento de multilocus (do inglês <i>Multilocus sequence typing</i>)
NSA	Ágar semente de Níger
OMS	Organização Mundial da Saúde (do inglês <i>World Health Organization</i>)
PCR	Reação de polimerase em cadeia (do inglês <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
Ph	Potencial hidrogeniônico
RAPD	Amplificação aleatória de DNA polimórfico (do inglês <i>Random Amplified Polymorphic DNA</i>)
RFLP	Fragmentos de DNA gerados por enzimas de restrição (do inglês <i>Restriction Fragment Length Polymorphisms</i>)
SES-GO	Secretaria Estadual de Saúde de Goiás
SIM	Sistema de Informação de Mortalidade

SNC	Sistema nervoso central
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TARVc	Terapia antirretroviral combinada
TNF	Fator de necrose tumoral
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
Var.	Variedade
VNI	Variedade <i>neoformans</i> tipo molecular I
VNII	Variedade <i>neoformans</i> tipo molecular II
VNIII	Variedade <i>neoformans</i> tipo molecular III
VNIV	Variedade <i>neoformans</i> tipo molecular IV
VGI	Variedade <i>gattii</i> tipo molecular I
VGII	Variedade <i>gattii</i> tipo molecular II
VGIII	Variedade <i>gattii</i> tipo molecular III
VGIV	Variedade <i>gattii</i> tipo molecular IV
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. albidus</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>
<i>C. bacillisporus</i>	<i>Cryptococcus bacillisporus</i>
<i>C. decagattii</i>	<i>Cryptococcus decagattii</i>
<i>C. deneoformans</i>	<i>Cryptococcus deneoformans</i>
<i>C. deuterogattii</i>	<i>Cryptococcus deuterogattii</i>
<i>C. laurentii</i>	<i>Cryptococcus laurentii</i>
<i>C. gattii</i>	<i>Cryptococcus gattii</i>
<i>C. neoformans</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>C. tetragattii</i>	<i>Cryptococcus tetragattii</i>
<i>F. bacillispora</i>	<i>Fisiobadiella bacillispora</i>
<i>F. neoformans</i>	<i>Fisiobadiella neoformans</i>

A criptococose é uma micose sistêmica de elevada letalidade, sendo a meningoencefalite a forma mais grave e frequente da infecção. Ela é causada principalmente *C. neoformans* e *C. gattii*. *C. neoformans* é cosmopolita e geralmente se associa a indivíduos com imunossupressão celular pelo vírus HIV, enquanto *C. gattii* é endêmico em regiões tropicais e subtropicais, sendo normalmente patógeno primário em hospedeiros aparentemente imunocompetentes. O objetivo deste trabalho foi caracterizar os aspectos clínicos-epidemiológicos de pacientes com criptococose no estado de Goiás, nos anos de 2011 a 2014, a partir da análise de registros laboratoriais e de prontuários médicos localizados em unidades de referência para o agravo. Foram analisados 130 casos, com as seguintes variáveis pesquisadas: sexo, idade, procedência, naturalidade, fatores de risco, sinais e sintomas, forma clínica da doença, exames laboratoriais, tratamento, evolução e sequelas. Encontrou-se os seguintes resultados: predomínio do sexo masculino; faixa etária de 31 a 40 anos em HIV positivos e acima de 50 anos em HIV negativos; maioria dos pacientes naturais de Goiás e residentes em Goiânia-GO; 89,2% eram HIV positivos e 10,8% HIV negativos, sendo o uso crônico de medicamentos imunossupressores relacionados como fator de risco em 64,3% dos soronegativos; cefaleia e febre constituíram os principais sintomas e a meningoencefalite a forma clínica preponderante; *C. neoformans* foi a espécie mais isolada na cultura dos espécimes clínicos; a média da contagem de células T CD4 dos HIV positivos foi de 58,66 células/mm³; a maioria dos pacientes fizeram uso de anfotericina B durante a fase de indução do tratamento; 60,8% dos pacientes foram a óbito dos quais, 47,7% tendo criptococose como causa básica ou associada de morte e entre os pacientes que sobreviveram, 43,1% ficaram com sequelas, sendo o déficit visual mais frequente. Acredita-se que os resultados obtidos possam servir como base de dados para documentar o perfil clínico-epidemiológico dos pacientes com criptococose em uma região tropical e contribuir com estudos de ecoepidemiologia global da doença.

Palavras-chave: criptococose, epidemiologia, infecções por HIV

Cryptococcosis is a systemic mycosis associated with high lethality, with meningoencephalitis being the most serious and frequent form of infection. It is mainly caused by *C. neoformans* and *C. gattii*. *C. neoformans* is cosmopolitan and in general is associated with individuals with cellular immunosuppression related to HIV virus, while *C. gattii* is endemic in tropical and subtropical areas and is usually a primary pathogen in apparently immunocompetent hosts. The objective of this study was to characterize the clinical and epidemiological aspects of patients with cryptococcosis in the state of Goiás, Brazil, from 2011 to 2014, based on the analysis of laboratory data and medical records from reference units. We analyzed 130 cases with the following variables: sex, age, region, risk factors, signs and symptoms, clinical form of the disease, laboratory data, treatment, evolution and sequelae. The following results were found: male predominance; age group of 31 to 40 years in HIV positive and over 50 years in HIV negative; majority of patients from Goiás and residents in capital (Goiânia); 89.2% were HIV positive and 10.8% were HIV negative. Also, the chronic use of immunosuppressive drugs was considered a risk factor in 64.3% of seronegatives; headache and fever were the main symptoms and meningoencephalitis was the predominant clinical form; *C. neoformans* was the most isolated species in culture of clinical specimens; the mean HIV-CD4 T-cell count was 58.66 cells / mm³; the majority of patients were treated with amphotericin B during the induction phase of treatment; 60.8% of the patients died, of which 47.7% had cryptococcosis as the underlying or associated cause of death and among patients who survived, 43.1% had sequelae, with visual impairment being the most frequent. It is believed that the results obtained can be used as a database to document the clinical-epidemiological profile of patients with cryptococcosis in a tropical area and contribute with studies of global epidemiological epidemiology of the disease.

Key words: cryptococcosis, epidemiology, HIV infections

1.1 Criptococose – Características Gerais

A criptococose é uma micose de caráter sistêmico, potencialmente letal, que acomete humanos e animais, sendo causada comumente por *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* (CONSENSO, 2008; KWON-CHUNG et al., 2017). Relatos de infecção por outras espécies do gênero *Cryptococcus* principalmente *Cryptococcus laurentii* e *Cryptococcus albidus*, embora raros, têm sido reportados nas últimas décadas (GULLO et al., 2013; MITCHELL; PERFECT, 1995; KHAWCHAROENPORN et al., 2007).

Estes microrganismos podem provocar infecção em indivíduos hígidos, entretanto, os imunodeprimidos pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) representam o principal grupo de acometidos, sendo inclusive considerada uma doença definidora de aids (síndrome da imunodeficiência adquirida) quando ocorre sob forma extrapulmonar. Outras situações que ocasionem imunossupressão, como uso de corticoides, quimioterápicos citotóxicos, inibidores do fator de necrose tumoral (TNF), desordens hematológicas, diabetes e transplantes de órgãos podem favorecer o desenvolvimento da doença (BRASIL, 2017; MARUKUTIRA et al., 2014; MITCHELL; PERFECT, 1995; PAPPAS, 2013).

A infecção é normalmente adquirida pela inalação de propágulos infectantes (basidiósporos e/ou leveduras viáveis dessecadas) que irão se depositar inicialmente nos alvéolos pulmonares determinando a forma primária da doença (PASSONI et al., 1998; SORREL; ELLIS, 1997). Esta poderá ser assintomática ou disseminar para outros órgãos por via hematogênica, com especial tropismo pelo sistema nervoso central (SNC). Dentre as diferentes manifestações clínicas, a mais frequente é a meningoencefalite, que está associada à elevada taxa de letalidade, acompanhada ou não de lesão pulmonar evidente, fungemia e focos

secundários para pele, ossos, rins, entre outros (BICANIC; HARRISON, 2004; BIVANCO; MACHADO; MARTINS, 2006; CONSENSO, 2008; LINDENBERG et al., 2008).

O tratamento das formas disseminadas da doença é feito geralmente com anfotericina B (AmB), associada ou não à outros antimicrobianos, principalmente o fluconazol (FZ) e a 5-flucitosina (5-FC) (PERFECT; BICANIC, 2015; WHO, 2011). O aparecimento de infecções reincidentes, refratárias ao tratamento preconizado tem sido relatadas em alguns estudos, indicando possível desenvolvimento de resistência das leveduras aos antifúngicos empregados (GULLO et al., 2013; SILVA et al., 2008).

1.2 Epidemiologia

A criptococose constitui a micose sistêmica de maior incidência entre indivíduos HIV positivos. A estimativa mundial de meningite criptocócica nesse grupo é de aproximadamente 1 milhão de casos por ano, acarretando cerca de 625.000 óbitos anualmente. As regiões do globo com maior número de casos são a África Subsaariana e o Sudeste Asiático, com respectivamente cerca de 720.000 e 120.000 casos por ano. Nessa parte do continente africano, o número de óbitos por meningite criptocócica chega a ultrapassar o de tuberculose (GULLO et al., 2013; PARK et al., 2009).

Apesar da criptococose ser mais frequentemente associada a infecção pelo HIV, em países desenvolvidos como Estados Unidos, Austrália e Canadá, grande parte dos casos ocorre entre os que não portadores do vírus (PAPPAS, 2013; PAPPAS et al., 2001). São eles, os receptores de transplante, pacientes sob uso de agentes imunossupressores, portadores de imunodeficiências naturais e de distúrbios hematológicos ou até mesmo em indivíduos hígidos (PAPPAS, 2013; PAPPAS et al., 2001). O acesso prévio à terapia antirretroviral combinada (TARVc) associado com a disponibilidade de drogas fungicidas, tem contribuído respectivamente para diminuição na incidência e mortalidade da criptococose em países de alta renda (SLOAN; PARRIS, 2014).

No Brasil, ocorre como primeira infecção oportunista em torno de 4,4% dos casos de aids e estima-se sua prevalência nos portadores dessa síndrome, entre 8 e 12% em centros de referência da região Sudeste (BRASIL, 2014). Porém, assim como as demais infecções fúngicas sistêmicas, a criptococose não está vinculada à lista de doenças de notificação obrigatória no sistema de saúde nacional, ficando difícil avaliar sua real dimensão (PRADO et al., 2009).

Num estudo realizado por Prado et al. (2009) a partir de dados de 1996 a 2006 do Sistema de Informação de Mortalidade (SIM) do Ministério da Saúde, as micoses sistêmicas foram a causa subjacente de 3.583 mortes anuais em 23,6% dos municípios brasileiros; sendo a criptococose responsável por cerca de 25% dessas mortes. Nesse mesmo estudo, ao analisar menção de qualquer micose sistêmica em indivíduos que morreram por aids, encontrou-se 5.898 registros em 125.633 mortes, sendo a criptococose citada em 50,9% desses registros.

A maioria dos casos de criptococose no Brasil e demais países do globo é provocada por *C. neoformans*, especialmente do sorotipo A, denominado *C. neoformans* variedade *grubii*. Nesses casos, o perfil predominante dos pacientes é de imunocomprometidos pelo HIV (LITVINTSEVA et al., 2005; MITCHELL; PERFECT, 1995; NISHIKAWA et al., 2003; PAPPALARDO; MELHEM, 2003; SOUZA et al., 2009, VIVIANI et al., 2006). Isolados sorotipos D (*C. neoformans* var. *neoformans*) também estão associados à criptococose em imunocomprometidos, porém com menos frequência e sobretudo na Europa (ANTINORI, 2013; LITVINTSEVA et al., 2005; TELLO et al., 2013). Em contrapartida, a criptococose por *C. gattii*, afeta preferencialmente hospedeiros imunocompetentes, ocorrendo de forma endêmica em áreas tropicais e subtropicais, sendo mais frequente na Oceania. Entretanto, surtos em áreas temperadas, localizadas no Canadá e Noroeste do Pacífico dos Estados Unidos ocorreram recentemente, demonstrando que o fungo pode adaptar-se a novos ambientes (COGLIATI, 2013; GALANIS; MACDOUGALL, 2010; HARRIS, 2011). Em nosso país, casos de criptococose causados por *C. gattii* em indivíduos sem evidência de imunodepressão predominam nas regiões Norte e Nordeste, com letalidade de 37 a 49%, constituindo uma endemia regional (BRASIL, 2014;

CORRÊA et al., 1999, 2002; SANTOS et al., 2008; MARTINS et al., 2011).

Levantamentos epidemiológicos em diversos países apontam que a criptococose ocorre com maior frequência em adultos do gênero masculino (LIAO et al., 2012; MEYER et al., 2003; MIRZA et al., 2003; MITCHELL; PERFECT, 1995; SOUZA et al., 2013; TSUJI; BARBABOSA; RIVERA, 2005) entretanto, no Norte e Nordeste brasileiros, onde *C. gattii* é a espécie prevalente, a criptococose atinge especialmente adultos jovens e crianças, de ambos os sexos (BRASIL, 2014; CORRÊA et al., 1999, 2002; SANTOS et al., 2008).

Estudos sobre epidemiologia molecular da criptococose e seus agentes, revelaram que o genótipo mais frequentemente encontrado de *C. neoformans* em todo mundo, incluindo o Brasil, é o VNI (variedade *neoformans* tipo molecular I). Em países da Oceania, como Austrália e Papua Nova Guiné, onde predominam *C. gattii*, o VGI (variedade *gattii* tipo molecular I) é o mais prevalente, contrastando com Norte e Nordeste brasileiros, onde o tipo molecular mais encontrado é o VGII (variedade *gattii* tipo molecular II). Os diferentes genótipos de *C. neoformans* e *C. gattii* distinguem-se quanto a características epidemiológicas, distribuição geográfica, forma clínica no hospedeiro e resposta terapêutica (COGLIATI, 2013; FAVALESSA et al., 2014; SOUZA et al., 2009; TRILLES et al., 2008; TRILLES et al., 2014).

1.3 Aspectos Históricos da Criptococose e dos Agentes Etiológicos

Etmologicamente a palavra *Cryptococcus* significa “escondido”, “secreto”, “oculto” e origina-se do grego “*Kryptos*”, sendo tal terminologia criada em 1833 por Kutzinger (HEITMAN et al., 2011).

Primeiramente, a criptococose foi descrita por Zenker em 1861, mas por não ter havido evidência da cultura microbiana, a validação do caso foi questionável. Em 1894, atribuiu-se a dois alemães, o patologista Otto Busse e o médico cirurgião Abraham Buschke o mérito da primeira descrição da doença. Eles isolaram leveduras a partir de lesão tibial, numa mulher de 31

anos, cuja patogenicidade foi confirmada através da re-inoculação do fungo na pele da própria paciente. Essa veio a falecer em decorrência de infecção disseminada e as leveduras, por serem semelhantes a *Saccharomyces*, foram denominadas de *Saccharomyces hominis* e a infecção de *Saccharomycosis hominis* (HEITMAN et al., 2011; LACAZ, 2002; SRIKANTA; SANTIAGO-TIRADO; DOERING, 2014).

No mesmo ano, o cientista Francesco Sanfelice do Instituto de Higiene da Universidade de Cagliari na Itália, realizou o primeiro isolamento destas leveduras em fonte ambiental, a partir do suco de pêssego. Em 1895 ele demonstrou a capacidade das mesmas em produzir lesões quando inoculadas em animais de laboratório, como coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) e porquinhos da Índia (*Cavia cobaya*), evidenciando assim a patogenicidade. Sanfelice nomeou-as de *Saccharomyces neoformans* por serem semelhantes ao gênero *Saccharomyces* mas apresentando uma nova forma de colônia (daí “*neoformans*”) e com células fúngicas possuindo cápsulas (BARNETT, 2010; HEITMAN et al., 2011; SRIKANTA; SANTIAGO-TIRADO; DOERING, 2014).

Em 1896, Ferdinand Curtis, professor de patologia na Faculdade de Medicina de Lille na França, publicou a descrição detalhada de uma espécie de levedura, isolada de tumor subcutâneo na coxa e abscesso ulcerado na região lombar de um jovem francês. O agente foi designado de *Saccharomyces subcutaneus tumefaciens* pelo fato de Curtis considerar a levedura morfológicamente distinta das leveduras descritas por Busse, Buschke e Sanfelice, com formas alongadas e baciliformes, além das ovaladas. Ele também observou que esses fungos não fermentavam carboidratos (HEITMAN et al., 2011; LACAZ; PORTO; MARTINS, 1991).

No ano de 1901, o micologista francês da Universidade de Nancy, Jean-Paul Vuillemin reclassificou respectivamente os isolados de Busse, Bushcke e Sanfelice em *Cryptococcus hominis* e *C. neoformans*. Em virtude da incapacidade de formar ascósporos e de fermentar carboidratos, Vuillemin considerou inadequado enquadrá-los no gênero *Saccharomyces* e transferiu-os para o gênero *Cryptococcus*, estabelecido por Kutzing em 1833 (BARNETT, 2010; HEITMAN et al., 2011; LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004).

Segue-se a partir desse momento, uma série de relatos clínicos de doenças provocadas por leveduras que se assemelhavam com *C. neoformans* (BARNETT, 2010).

Nos Estados Unidos da América (EUA), em 1916, os médicos James Leavitt Stoddard e Elliott Carr Cutler descreveram alguns casos de meningoencefalite e de lesões cutâneas provocadas por uma levedura por eles denominada de *Torula hystolitica*. Houve um equívoco na nomeação do agente por terem confundido a cápsula fúngica com a ação histolítica do agente no tecido do hospedeiro (HEITMAN et al., 2011; LACAZ, 1991).

Mais de 20 anos após o primeiro isolamento dessas leveduras, em 1935, a botânica Rhoda Benham da Universidade de Columbia, Nova Iorque, conduziu um estudo abrangente com 22 isolados de criptococos, incluindo aqueles cultivados por Busse, Curtis e outros pesquisadores que classificaram essas leveduras nos gêneros *Saccharomyces*, *Cryptococcus* e *Torula*. Benham através de análises morfológicas, sorológicas e estudos de patologia classificou todos os isolados no gênero *Cryptococcus* e ainda sugeriu que eles poderiam ser divididos duas variedades, distintas por tipos antigênicos e pela virulência (HEITMAN et al., 2011; LACAZ, 2002).

Em 1949, na Universidade de Michigan em Ann Arbor (EUA), Edward Evans demonstrou diferenças sorológicas entre isolados clínicos de *Cryptococcus*, descrevendo os sorotipos A, B e C; posteriormente os sorotipos D e AD foram identificados. Um ano depois, Benham recomendou a adoção do nome da espécie proposta por Vuillemin, *C. neoformans* e a designar a doença como criptococose, passando essa nomenclatura ser aceita formalmente (BARNETT, 2010; HEITMAN et al., 2011; LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004).

No ano de 1970, na Universidade Lovanium, República Democrática do Congo, Gatti e Eeckels, isolaram uma forma atípica de criptococos numa criança congoleza de sete anos com quadro de meningoencefalite. Neste mesmo ano, esse isolado foi encaminhado para Raymond Vanbreuseghem e Mitsuo Takashio no Laboratório de Micologia do Instituto de Medicina Tropical Prince Léopold na Bélgica, afim de confirmar sua identificação. Após inoculação animal, foram observadas as clássicas formas arredondadas associadas a estruturas atípicas, alongadas e baciliformes,

sendo proposto que o mesmo fosse denominado *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (GATTI; EECKELS, 1970; VANBREUSEGHEM; TAKASHIO, 1970).

A partir de 1975, estudos de reprodução realizados por Kyung J. Kwon-Chung et al., revelaram que a levedura reproduzia - se assexuadamente por brotamento (formas anamorfos) e também de maneira sexuada (formas teleomorfos). A forma sexuada foi denominada de *Filobasidiella neoformans*, sugerindo as pesquisas iniciais ser composta por duas variedades, *F. neoformans* var. *neoformans* e *F. neoformans* var. *bacillispora*, que correspondiam respectivamente aos anamorfos *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *gattii* (AULAKH; STRAUSS; KWON-CHUNG, 1981; KWON-CHUNG, 1975; KWON-CHUNG; BENNETT; RHODES, 1982). A levedura passa ser classificada como única espécie, *Cryptococcus neoformans* e duas variedades, *C. neoformans* var. *neoformans* (sorotipos A e D) e *C. neoformans* var. *gattii* (sorotipos B e C) (KWON-CHUNG; POLACHEK; BENNETT, 1982).

Com base em estudos filogenéticos, somados ao conhecimento das diferenças morfológicas, bioquímicas, antigênicas, ecológicas e epidemiológicas, em 2002, essas variedades foram consideradas espécies distintas (BOEKHOUT et al., 2001; KWON-CHUNG, et al., 2002; KWON-CHUNG; VARMA, 2006).

Atualmente, a classificação baseia-se num complexo de espécies que compreende *C. neoformans* (com duas variedades, *C. neoformans* var. *grubii* e *C. neoformans* var. *neoformans*) com os sorotipos A, D e AD (híbrido intervarietal) e *C. gattii* com os sorotipos B e C. Também já foram descritos isolados clínicos identificados como híbridos interespecíficos por apresentarem genótipos de *C. neoformans* e *C. gattii* simultaneamente (BOVERS; HAGEN; BOEKHOUT, 2008; FRANZOT; SALKIN; CASADEVALL, 1999; KWON-CHUNG; VARMA, 2006; LIN; HEITMAN, 2006).

Com base na análise filogenética de 115 isolados, uma nova taxonomia foi proposta em 2015, dividindo *C. neoformans* em duas espécies: *C. neoformans* e *C. deneoformans* e *C. gattii* em cinco espécies: *C. gattii*, *C. bacillisporus*, *C. deuterogattii*, *C. tetragattii* e *C. decagattii* (HAGEN et al.,

2015). No entanto, essa propositura ainda é tema de discussão entre pesquisadores da área, pois parte deles consideram que não há segurança em delinear espécies dos agentes de criptococose com base estudos de filogenia, dada as variadas possibilidades de recombinação, clonalidade e hibridização dentro e entre as linhagens (KWON-CHUNG et al., 2017).

Em 2017 foi sugerida uma classificação intermediária, espécies do complexo *C. neoformans* e espécies do complexo *C. gattii*, sendo uma estratégia de reconhecimento da diversidade genética, sem provocar instabilidade nomenclatural até que mais estudos sejam realizados (KWON-CHUNG et al., 2017). Como o consenso ainda não foi alcançado, a taxonomia clássica continua sendo utilizada.

1.4 Agentes Etiológicos da Criptococose

1.4.1 Taxonomia e tipos moleculares

Com base nas características fenotípicas e genéticas de seus teleomorfos, *C. neoformans* e *C. gattii*, estão inseridos taxonomicamente no Reino Fungi, Filo Basidiomycota, Sub-filo Agaricomycotina, Classe Tremellomycetes, Ordem Tremellales, Gênero *Filobasidiella*, Espécies teleomórficas: *F. neoformans* (sorotipos A, D e AD) e *F. bacillispora* (sorotipos B e C), sendo correspondentes às suas formas anamórficas: *C. neoformans* (sorotipos A, D e AD) e *C. gattii* (sorotipos B e C) (KURTZMAN; FELL; BOEKHOUT, 2011). *C. neoformans* abriga duas variedades, *C. neoformans* var. *grubii* (equivalendo ao sorotipo A) e *C. neoformans* var. *neoformans* (equivalendo ao sorotipo D) (LIN; HEITMAN, 2006).

C. neoformans do sorotipo AD é um híbrido intervarietal por conter alelos típicos dos sorotipos A e D e sua classificação no âmbito das variedades, ainda não está bem definida (LIN; HEITMAN, 2006, NISHIKAWA et al., 2003). Híbridos interespecíficos em isolados clínicos (sorotipo A versus sorotipo B, sorotipo B versus sorotipo D, sorotipo C versus sorotipo D) também tem sido reportados (BOVERS et al., 2006; BOVERS; HAGEN; BOEKHOUT, 2008).

Através de métodos de tipagem molecular que começaram ser utilizados a partir dos anos 90, isolados clínicos e ambientais de *C. neoformans* e *C. gattii* foram caracterizados, demonstrando evidente heterogenicidade genética entre os mesmos, inclusive dentro de pequenas áreas geográficas (BOEKHOUT, 2001; COGLIATI, 2013; FRANZOT et al., 1997; MEYER et al., 1993; PERFECT et al., 1993). Esses métodos possibilitaram a classificação dessas espécies em oito principais tipos moleculares: VNI (correspondente a *C. neoformans* var. *grubii*, sorotipo A), VNII (correspondente a *C. neoformans* var. *grubii*, sorotipo A), VNIII (correspondente a *C. neoformans*, sorotipo AD), VNIV (correspondente a *C. neoformans* var. *neoformans*, sorotipo D) e VGI, VGII, VGIII e VGIV (correspondente a *C. gattii*, sorotipos B e C) (MEYER et al., 2003) (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação das principais espécies de *Cryptococcus* spp.

Espécies	Sorotipos	Genótipos
<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i>	A	VNI e VNII
<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	D	VNIV
<i>C. neoformans</i>	AD	VNIII
<i>C. gattii</i>	B e C	VGI, VGII, VGIII e VGIV

1.4.2 Ecologia

A distribuição das leveduras do gênero *Cryptococcus* na natureza é muito diversificada, associando-se especialmente à decomposição de vegetais, cascas de diversos tipos de árvores, frutas e excrementos de pombos e outras aves (LEITE et al., 2012). No ambiente urbano, essas espécies já foram isoladas entre outros locais em construções abandonadas, jardins, praças, parques, igrejas e poeira domiciliar (BARONI et al., 2006; FARIA et al., 2010; LEITE et al., 2012; PASSONI et al., 1998; SWINNE et al., 1989).

C. neoformans apresenta distribuição cosmopolita, ocorrendo em

diversos substratos orgânicos, porém é comumente isolado a partir de excretas de pássaros como canários, periquitos e especialmente pombos urbanos (*Columba livia*), considerados a principal fonte desta espécie (BARONI et al., 2006; CONSENSO, 2008; LEITE et al., 2012). Devido a boa adaptação dos pombos ao ecossistema urbano, ocorre conseqüentemente o acúmulo de excretas dessas aves no meio, favorecendo as infecções em humanos e animais (FARIA et al., 2010).

C.gattii é encontrado em regiões de clima tropical e subtropical mas tem mostrado expansão para áreas de clima frio e temperado, estando normalmente associado à árvores e seus detritos decompostos (CONSENSO, 2008). Inicialmente foi isolado em árvores do gênero *Eucalyptus* na Austrália, sendo posteriormente observado em árvores tropicais do Brasil como cassia, ficus e mulungu, além de cedros, pinheiros e carvalhos em regiões de clima temperado, como Vancouver no Canadá (ELLIS; PFEIFFER, 1990; KIDD et al., 2007; LAZÉRA et al., 1998; SPRINGER; CHATURVEDI, 2010; TRILLES et al., 2003).

1.4.3 Morfologia e características bioquímicas

C. neoformans e *C. gattii* são leveduras geralmente haploides, uni ou multibrotantes, com forma esférica ou ovalada de 3 a 8 µm de diâmetro, envoltas por uma cápsula de natureza polissacarídica (LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004). Através de microscopia eletrônica, observa-se que possuem características morfológicas usuais de uma célula eucarionte: núcleo simples circundado por dupla membrana porosa com nucléolo no seu interior e, citoplasma contendo diversas organelas (Figura 1) (CASADEVALL; PERFECT, 1998).

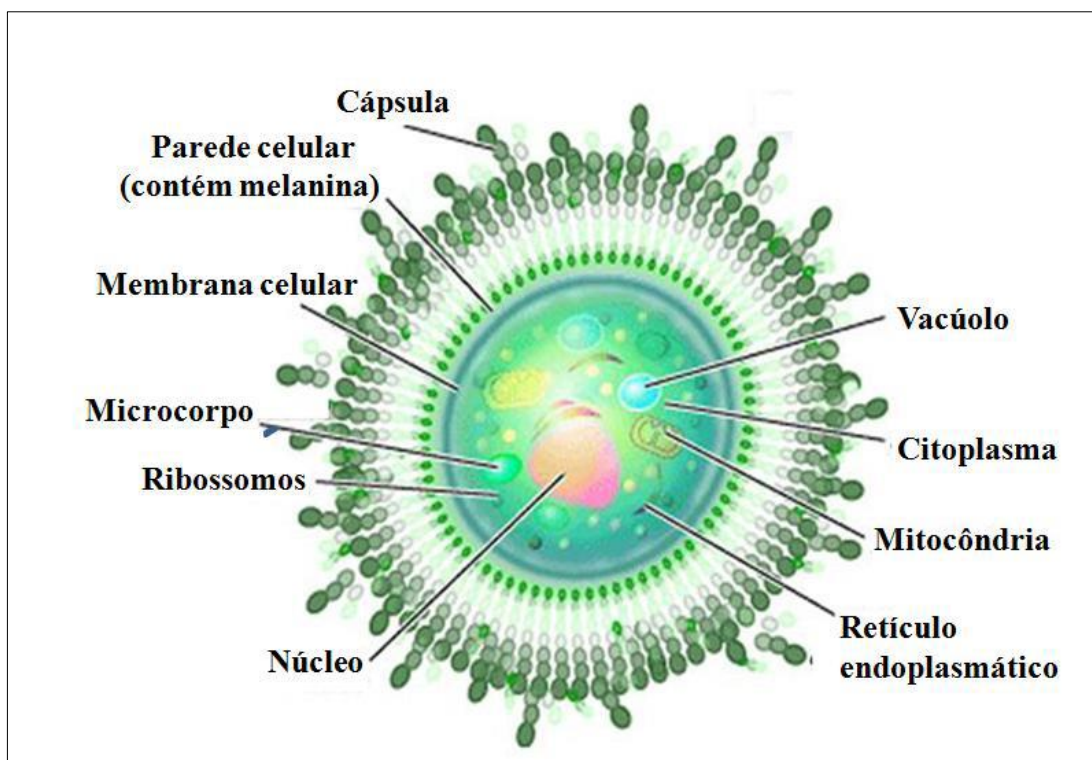


Figura 1. Representação esquemática dos constituintes da célula de *Cryptococcus* spp. Adaptado de LI; MODY, 2010.

Estes microrganismos quando cultivados em meios de cultura específicos, produzem colônias mucoides, leveduriformes de cores branca, creme e marrom. São aeróbios, termotolerantes (desenvolvem-se entre 35° a 40°C), não fermentativos, porém assimilam determinados carboidratos. São sensíveis a cicloheximida e não assimilam o nitrato como fonte de nitrogênio. Mediante meios específicos, hidrolisam a ureia e sintetizam pigmento melanínico, a partir da presença em suas células fúngicas de urease e fenoxidase, respectivamente. (LACAZ; PORTO; MARTINS, 1991; LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004). Essas enzimas, a presença da cápsula polissacarídica e a habilidade de desenvolver em temperaturas elevadas, constituem fatores relacionados com a virulência dessas leveduras (CASALI et al., 2001).

1.4.4 Fatores de virulência

C. neoformans e *C. gattii* possuem determinantes de virulência bem elucidados, que auxiliam na adaptação rápida e eficaz desses fungos em

condições variáveis tanto no meio ambiente, como no hospedeiro infectado (ALSPAUGH, 2015; BUCHANAN; MURPHY, 1998). Outras espécies do gênero também podem expressá-los, havendo relatos com relação a isolados de *C. laurentii* e *C. albidus* (FILION; KIDD; AGUIRRE, 2006; PEDROSO; FERREIRA; CANDIDO, 2006).

No hospedeiro, os fatores de virulência contribuem para o aumento da patogenicidade dessas leveduras por facilitarem a transposição às defesas imunológicas, a sobrevivência, a multiplicação e a disseminação das mesmas em órgãos e tecidos (BUCHANAN; MURPHY, 1998; KRONSTAD et al., 2011; LI; MODY, 2010). Os principais exemplos de fatores de virulência são: a cápsula polissacarídica, produção de melanina, capacidade de crescimento a 37 °C, produção das enzimas fosfolipase, proteinase e urease e *mating type* (ALSPAUGH, 2015; BUCHANAN; MURPHY, 1998; KOZEL, 1995; MA; MAY, 2009).

1.4.4.1 Cápsula polissacarídica

A cápsula polissacarídica é uma das características mais marcantes das leveduras de *C. neoformans* e *C. gattii*, sendo considerada um de seus principais fatores de virulência (ALSPAUGH, 2015; RAKESH et al., 2008) (Figuras 2 e 3). No hospedeiro, ela atua exercendo efeitos inibitórios sobre o processo de fagocitose, impedindo a migração leucocitária, alterando a apresentação de antígenos dos linfócitos T, favorecendo a redução de citocinas, tais como fator de necrose tumoral alfa (TNF α), interleucina 1 beta (IL-1 β) e interleucina 6 (IL-6) e induzindo a apoptose (autodestruição) de macrófagos (BUCHANAN; MURPHY, 1998; MA; MAY, 2009). No meio ambiente, ela protege a levedura contra dessecação e a ação de protozoários (amebas) predadores presentes no solo (CASADEVALL; STEENBERGEN; NOSANCHUK, 2003).

Ela é constituída por glucuroxilomanana (GXM), galactoxilomanana (GalXM) e manoproteínas. A GXM é o principal polissacáride capsular, correspondendo a aproximadamente 90-95% de sua massa total. Diferenças estruturais nesse polímero são a base para classificação antigênica dos

criptococos patogênicos (sorotipos A, B, C, D, AD) (LI; MODY, 2010; RAKESH et al., 2008).

Tinta da China

Método de Grocott



Figura 2. Microscopia óptica comum (objetiva de imersão) de células de criptococos submersas em formol utilizado para conservar espécime cerebral. Esfregaços confeccionados e corados respectivamente pela tinta da china (tinta nanquim) e pelo método de Grocott evidenciando espessas cápsulas circundando as células leveduriformes. Adaptado do site didático da FCM – UNICAMP. Disponível em: <http://anatpat.unicamp.br/nptcripto1d.html#mecapsula>

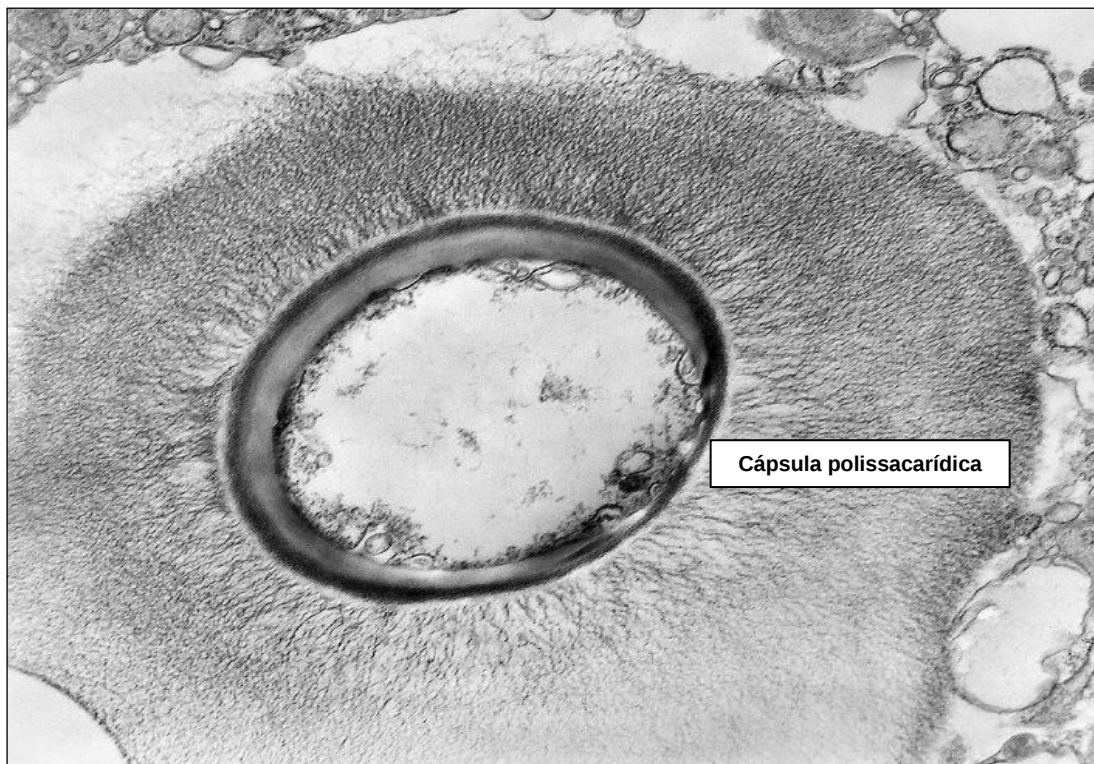


Figura 3. Microscopia eletrônica de células de criptococos de criptococoma cerebral, conservado em formol cerca de 30 dias. A cápsula polissacarídica aparece como finíssimas fibrilas em disposição radial, inseridas na superfície externa da parede celular e se rarefazem gradualmente à medida que se afastam da célula. Adaptado do site didático do Departamento de Anatomia Patológica da

1.4.4.2 Melanina

A melanina é um pigmento hidrofóbico de alto peso molecular, produzido por *C. neoformans* e *C. gattii* na presença de precursores exógenos. Sua síntese é desencadeada pela ação de uma fenoloxidase, denominada lacase, presente nessas espécies e também considerada um fator de virulência. A lacase age sobre compostos fenólicos presentes de forma abundante no cérebro, tais como L-3,4- dihidroxifenilalanina (L-DOPA), epinefrina e norepinefrina, sendo este um dos motivos da predileção da levedura ao SNC, gerando intermediários instáveis que se polimerizam para formar melanina na parede da levedura (Figura 4). Existem indicativos de que a presença desse pigmento na estrutura celular de *C. neoformans/C.gattii* aumentem sua virulência (COLOMBO; RODRIGUES, 2015; KOZEL, 1995; KWON-CHUNG; POLACHECK; POPKIN, 1982; MA; MAY, 2009).

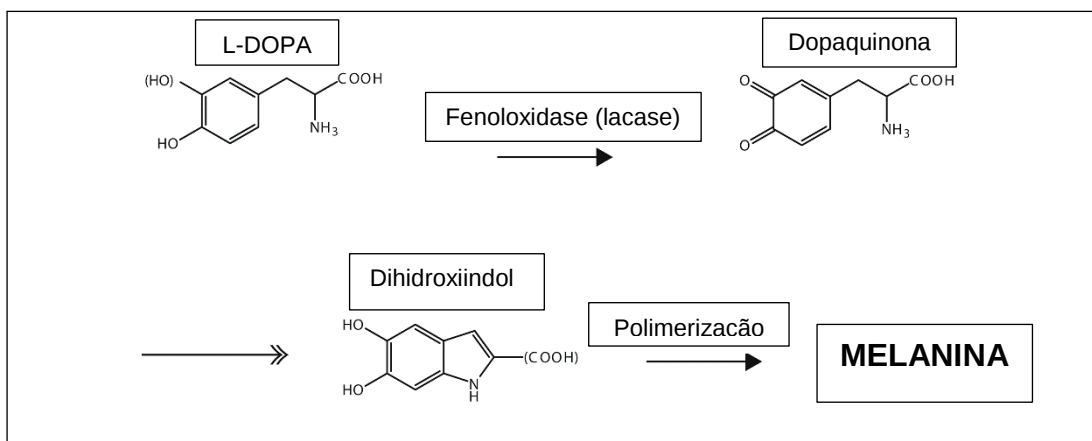


Figura 4. Via biossintética da melanina a partir de L-DOPA em *C. neoformans* e *C.gattii*. Esquema adaptado de CASADEVALL; EISENMAN, 2011.

Em experimentos laboratoriais comparativos, células criptocócicas melanizadas mostraram ser menos sensíveis a ação de antifúngicos, como a AmB e caspofungina, quando comparadas com as não melanizadas. Isso porque o pigmento confere a elas capacidade de ligar-se à essas substâncias, impedindo-as de atingir seus sítios de ação. Outro fator que

contribui para diminuição da sensibilidade é que a melanina associada a parede celular da levedura apresenta uma microestrutura com poros de diâmetro reduzido, que podem prevenir ou retardar a entrada desses antimicrobianos de elevada massa molecular (CASADEVALL; STEENBERGEN; NOSANCHUK, 2003; NOSANCHUK; CASADEVALL, 2006). Além desses efeitos, estudos demonstram que a atividade fagocitária das células de defesa do hospedeiro frente as leveduras melanizadas é diminuída, indicando que a deposição desse pigmento na parede celular pode inibir a opsonização por anticorpos específicos (BUCHANAN; MURPHY, 1998; CASADEVALL; STEENBERGEN; NOSANCHUK, 2003; MA; MAY, 2009; NOSANCHUK; CASADEVALL, 2006).

No meio ambiente, a melanina protege a levedura contra a luz ultravioleta e extremos de temperatura (CASADEVALL; STEENBERGEN; NOSANCHUK, 2003; NOSANCHUK; CASADEVALL, 2006).

1.4.4.3 Crescimento a 37°C

A capacidade de crescer em temperatura fisiológica é primordial para virulência de *C. neoformans* e *C. gattii*. Essa habilidade de crescimento a 37°C, também conhecida por termotolerância, ocorre numa atmosfera de cerca de 5% de gás carbônico e pH de 7,3 a 7,4 e é imprescindível para esses fungos invadirem tecidos e causarem doença (BUCHANAN; MURPHY, 1998; MA; MAY, 2009; MITCHELL; PERFECT, 1995).

Estudos *in vitro* demonstram que o crescimento de *C. neoformans* e *C. gattii* é fortemente regulado pela temperatura. Quando submetido à temperaturas de 39-40°C por mais de 24 horas, *C. neoformans* começa apresentar retardo significativo em sua taxa de crescimento, além das leveduras sofrerem vacuolização celular e ocorrer a produção de formas com padrões aberrantes. Já *C. gattii* é ainda mais sensível à altas temperaturas e a 40°C, a maioria de suas células perdem viabilidade em até 24 horas. Outros estudos mostraram que cepas mutantes desses patógenos, sensíveis à temperatura de 37°C são avirulentos em animais, independentemente da capacidade de formarem cápsulas ou produzirem melanina (LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004; MITCHELL; PERFECT, 1995).

Uma variedade de genes estão associados à sobrevivência do fungo a 37° C, entre eles o gene calcineurina A de *C. neoformans* (CNA1) que codifica a subunidade catalítica A da proteína calcineurina. Essa proteína é uma fosfatase específica para serina e treonina, dependente de cálcio e calmodulina e está envolvida na resposta de adaptação do fungo a diferentes tipos de estresses, entre eles a temperaturas mais elevadas (ODOM et al., 1997; PERFECT, 2006).

1.4.4.4 Produção de enzimas

Além da fenoloxidase, outras enzimas são secretadas por *C. neoformans* e *C. gattii* durante o processo de infecção, entre elas as fosfolipases, as proteinases e a urease. Essas enzimas contribuem para virulência, lesando tecidos, promovendo a sobrevivência das leveduras e interferindo na resposta imune do hospedeiro (ALMEIDA; WOLF; CASADEVALL, 2015).

As fosfolipases formam um grupo heterogêneo de enzimas (entre elas a fosfolipase B, lisofosfolipase e lisofosfolipase transacilase) que hidrolisam as ligações do tipo éster presentes nos fosfolipídios. Elas contribuem para desestabilização e consequente lise da membrana celular, através da hidrólise dessas ligações em glicerofosfolipídios presentes na bicamada lipídica, permitindo assim a penetração do microrganismo nos tecidos do hospedeiro (GHANNOUM, 2000; MA; MAY, 2009).

Proteases ou proteinases são enzimas capazes de causar dano tecidual e de interferir nos mecanismos de defesa das células do hospedeiro por quebrarem ligações peptídicas de proteínas estruturais como o colágeno e a elastina, além de proteínas de importância imunológica, como imunoglobulinas e fatores do sistema complemento (CHEN; BLANK; CASADEVALL, 1996; MA; MAY, 2009).

A urease é uma metaloenzima que hidrolisa a ureia em amônia e carbamato e em condições fisiológicas essa reação pode resultar aumento do pH do meio onde ocorre (COX et al., 2000). Em patógenos fúngicos, essa enzima pode ter um papel de garantir a utilização da ureia presente no

tecido adiposo subcutâneo, no SNC, no fluido de revestimento epitelial e sangue do hospedeiro como nutriente (SINGH et al., 2013).

A maioria dos isolados de *C. neoformans* e *C. gattii* expressam algum nível de atividade urease e acredita-se que ela seja um importante fator de virulência para essas espécies, entretanto os mecanismos pelos quais ela pode mediar a virulência ainda não estão devidamente esclarecidos. Estudos de experimentação animal demonstraram que ratos infectados (pelas vias intravenosa e intranasal) por criptococos que expressavam urease apresentavam altas taxas de mortalidade e demonstravam presença de leveduras no SNC, levando a proposta de que a enzima possa contribuir com essa invasão. Uma das hipóteses é que a urease provoque alterações na parede dos microvasos durante a disseminação hematogênica, favorecendo a migração do fungo do interior do capilares para o tecido nervoso. (ALMEIDA; WOLF; CASADEVALL, 2015; COX et al., 2000; OLSZEWSKI et al., 2004; SINGH et al., 2013).

1.4.4.5 *Mating type*

C. neoformans e *C. gattii* apresentam dois tipos sexuais ou *mating types* que apresentam importante papel na virulência e epidemiologia desses fungos. Sendo denominados *mating type* α (MAT α) e *mating type* a (MATa), definidos por único *locus* sexual, com dois alelos alternativos (KWON-CHUNG; EDMAN; WICKES, 1992).

A frequência de isolados do tipo *mating type* α provenientes de fontes clínicas e ambientais (principalmente das fezes de pombos) é cerca de 30 a 40 vezes maior que do tipo *mating type* a (KWON-CHUNG; BENNETT, 1978). Num estudo de virulência em camundongos, utilizando um par de cepas congênicas de *C. neoformans* var. *neoformans*, diferentes quanto aos tipos sexuais, foi demonstrado que as cepas MAT α são mais virulentas que as MATa. No experimento, 80% dos animais infectados com a cepa α morreram em 36 dias e o restante em 43 dias. Nos infectados com MATa, a infecção fatal ocorreu em 93 dias, acometendo 80% dos animais e os outros 20% pareciam aparentemente saudáveis até o fim do estudo, em 100 dias (KWON-CHUNG; EDMAN; WICKES, 1992).

Ao ser analisada a virulência de cepas congênicas de *C. neoformans* var. *grubii* (sorotipo A), durante a coinfeção com ambos *mating types*, foi observado que os dois tipos sexuais são equivalentes em tecidos periféricos. No entanto, as cepas MAT α apresentam elevada predileção para penetração no SNC, revelando diferenças de virulência entre as cepas congênicas α e α e sugerindo uma explicação para a prevalência de cepas α em isolados clínicos (NIELSEN et al., 2005).

1.4.5 Ciclo de vida

A maior parte dos fungos reproduz de forma mais efetiva a partir da via assexual, mantendo entretanto a possibilidade de recombinar sexualmente. Esta capacidade lhes confere diversos benefícios como, permitir sua adaptação em condições ambientais desfavoráveis, viabilizar formações genéticas vantajosas mais rapidamente que as populações assexuadas e propiciar ao microrganismo a função de eliminar mutações deletérias que poderiam acumular em clones assexuais (HALLIDAY; CARTER, 2003).

C. neoformans e *C. gattii* reproduzem-se de maneira assexuada por brotamento e sexuada por basídios e basidiósporos. A reprodução assexual resulta em estrutura de população clonal, enquanto a sexual está ligada a recombinação cromossômica (CASADEVALL; PERFECT, 1998; KOZUBOWSKI; HEITMAN, 2012).

Na fase assexuada ou anamórfica, as leveduras apresentam-se como células haploides, de forma arredondada ou ovalada, com blastoconídios (brotamentos) únicos ou múltiplos, saindo de qualquer região da parede celular, podendo permanecer ligados a levedura-mãe por um colo estreito. (LACAZ et al., 2002; LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004). Este é o principal meio de reprodução para maioria dos isolados de criptococos (KAVANAUGH; FRASER; DIETRICH, 2006).

A reprodução sexuada ou teleomórfica não foi observada diretamente no hospedeiro ou na natureza. Até o momento, sua verificação ocorreu somente em ambiente laboratorial controlado (KOZUBOWSKI; HEITMAN, 2012). Ela é normalmente obtida através do cruzamento de células

compatíveis de *mating types* opostos (MAT α e MAT a) sob condições adequadas de limitação de nutrientes e em resposta a liberação de feromônios (HULL; HEITMAN, 2002). Nesse processo há fusão das duas células, porém os núcleos parentais ficam separados, ocasionando a formação da hifa dicariótica com um grampo de conexão típico dos basidiomicetos. Na extremidade da hifa, ocorre a formação de uma estrutura denominada basídio, no interior do qual ocorre a fusão dos dois núcleos parentais, gerando um núcleo diploide que seguido de meiose formam basidiósporos (esporos). Os basidiósporos são então liberados, podendo produzir leveduras que multiplicam-se assexuadamente, continuando o ciclo reprodutivo (IDNURM et al., 2005; KOZUBOWSKI; HEITMAN, 2012; KWON-CHUNG; BENNETT; RHODES, 1982; KWON-CHUNG; EDMAN; WICKES, 1992).

Estudos demonstraram que *C. neoformans*, na ausência de um parceiro de *mating type* oposto, pode passar por um evento de frutificação monocariótica, com a consequente produção de basidiósporos de mesmo *mating type* (WICKES et al., 1996) (Figura 5). Essa capacidade também foi observada em isolados de *C. gattii*, provenientes de surto nas ilhas de Vancouver no Canadá (FRASER et al., 2005).

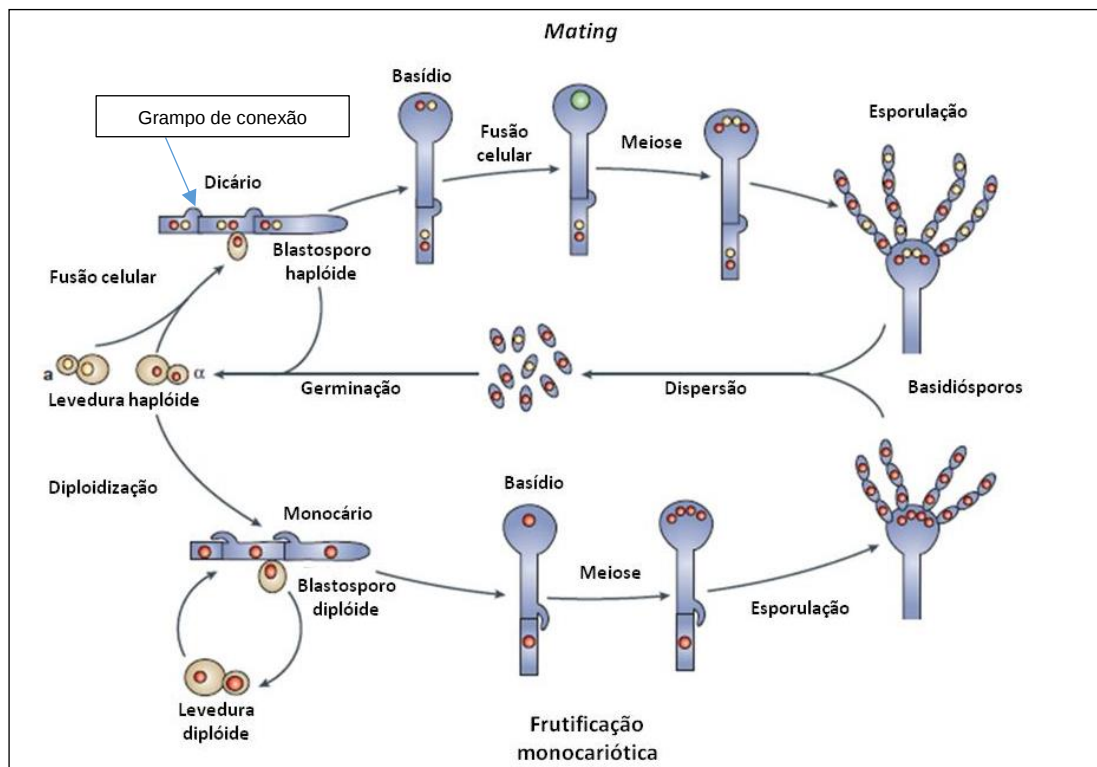


Figura 5. Representação esquemática do ciclo de vida sexuado de *Cryptococcus*. A reprodução sexual ocorre normalmente a partir da fusão de duas células de *mating types* opostos, MATa e MAT α . Após a fusão, ocorre a formação de uma hifa dicariótica, cuja extremidade é gerado o basídio, que sofre meiose, resultando na produção de basidiósporos de ambos *mating types*. Na frutificação monocariótica, células do mesmo *mating type* sofrem diploidização, formando uma hifa monocariótica diploide que após meiose, produz basidiósporos de mesmo *mating type*. Os basidiósporos gerados em ambos os processos vão para o ambiente e em condições favoráveis, germinam, dando origem às células leveduriformes. Figura adaptada de IDNURM et al., 2005.

1.5 PATOGENIA

Admite-se que a patogenia da criptococose esteja relacionada a três fatores: estado imunológico do hospedeiro, tamanho do inóculo e virulência da cepa de *C. neoformans/C.gattii* (CHEN; MEYER; SORREL, 2014; MITCHELL; PERFECT, 1995). Portanto, a gravidade da criptococose depende do equilíbrio entre a resposta imune do hospedeiro e o arsenal patogênico produzido pelo fungo (COLOMBO; RODRIGUES, 2015).

Normalmente, a forma mais frequente de adquirir a infecção ocorre pela inalação de propágulos infectantes do fungo presentes em fontes ambientais e que inicialmente depositam nos alvéolos pulmonares. Acredita-se que os propágulos constituam-se de leveduras dessecadas e/ou basidiósporos com menos de 3 μ m de diâmetro, uma vez que partículas maiores que 5 μ m de diâmetro ficam em geral retidas na árvore brônquica, não atingindo portanto os alvéolos pulmonares (PASSONI et al., 1998; SORREL; ELLIS, 1997; ZIMMER; HEMPEL; GOODMAN, 1984). Existem relatos de inoculação direta do fungo através de trauma na pele, demonstrando que ela pode ser reconhecida como via de penetração (BIVANCO; MACHADO; MARTINS, 2006; CONSENSO, 2008; HAMANN; GILLESPIE; FEGURSON, 1997; LI; MODY, 2010; NASSER; NASSER FILHO; VIEIRA, 2011; NEUVILLE et al., 2003).

Nos espaços alveolares, os propágulos infectantes desencadeiam uma resposta de defesa do hospedeiro, através de diferentes mecanismos de resistência como, ativação de macrófagos alveolares, produção de citocinas

pró-inflamatórias e respostas de células T e B (BRUMMER, 1999; HEITMAN et al., 2011). Dependendo da qualidade dessa resposta e da virulência da espécie envolvida, a infecção poderá ser assintomática, evoluindo espontaneamente para cura ou permanecer quiescente em linfonodos hilares ou em granulomas pulmonares. Estes focos residuais podem ser reativados após anos (especialmente em indivíduos imunossuprimidos) vindo a doença ser estabelecida, podendo então através de disseminação hematogênica, atingir outros órgãos, principalmente o SNC e outros sítios como, ossos, pele, rins, suprarrenal, próstata, coração, fígado, tireoide, medula óssea, linfonodos, olhos e outros (Figura 6) (BIVANCO; MACHADO; MARTINS, 2006; CONSENSO, 2008; IDNURM et al., 2005; LI; MODY, 2010; ROY; CHILLER, 2011; SRIKANTA; SANTIAGO-TIRADO; DOERING, 2014). A ocorrência de criptococose em indivíduos aparentemente normais, sugerem que a exposição recente ao fungo e não somente a reativação de focos quiescentes, possa ser capaz de provocar a doença, como foi observado em infecções por *C. gattii* em turistas que visitaram a Ilha de Vancouver (LI; MODY, 2010; LINDBERG et al., 2007).

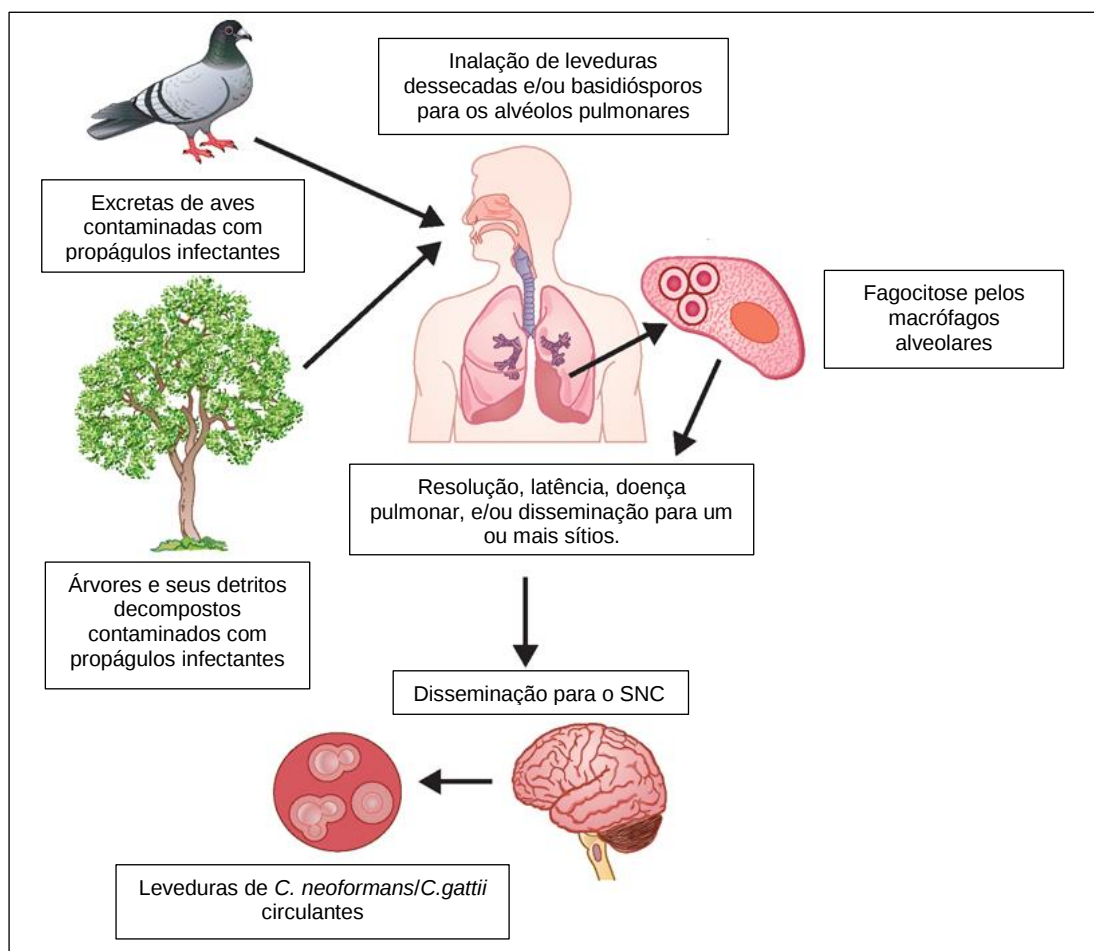


Figura 6. Representação esquemática da patogênese da criptococose. Adaptado de BROOKS et al., 2013.

1.5.1 Formas clínicas e sintomatologia

As formas clínicas da criptococose estão relacionadas com as condições imunológicas do hospedeiro, podendo variar desde manifestações localizadas e autolimitadas até doença disseminada (CONSENSO, 2008). Infecções subclínicas, localizadas e assintomáticas, de localização exclusivamente pulmonar, surgem na maioria das vezes em indivíduos imunocompetentes, enquanto que as forma disseminadas (extrapulmonares) acometem frequentemente indivíduos imunodeprimidos (OSUNA et al., 2008; TSUJI; BARBABOSA; RIVERA, 2005).

Na forma clínica pulmonar, a infecção inicial pode ser assintomática, correspondendo cerca de 1/3 dos casos, ou sintomática. Os sintomas normalmente desencadeados são tosse, febre, produção de escarro,

hemoptise, perda de peso, dor torácica e evolução para pneumonia e insuficiência respiratória graves, principalmente em indivíduos com aids (; MITCHELL; PERFECT,1995). Manifestações de infecção crônica com presença de nódulos, massas, cavidades, infiltrado intersticial e linfadenopatias podem estar presentes, devendo nestes casos excluir outras patologias como neoplasia pulmonar e tuberculose (BIVANCO; MACHADO; MARTINS, 2006).

Durante o processo de disseminação da criptococose, seus elementos leveduriformes poderão chegar em qualquer parte do corpo por via hematogênica e provocar manifestações próprias de cada localização (TELLO et al., 2013). O comprometimento do SNC sob a forma de meningite ou meningoencefalite é a manifestação mais grave e frequente da doença (CONSENSO, 2008; MITCHELL; PERFECT,1995). Os sintomas são variados e incluem cefaleia, febre acompanhada de calafrios ou sudorese, mal estar, papiledema, diplopia, fotofobia, náuseas, vômitos, rigidez da nuca, alterações da consciência, perda de memória e convulsões (BICANIC; HARRISON, 2004; CONSENSO, 2008; TSUJI; BARBABOSA; RIVERA, 2005). Podem ocorrer complicações como perda visual ou auditiva, devido ao aumento da pressão intracraniana e menos comumente, déficit cognitivo em virtude da hidrocefalia (BICANIC; HARRISON, 2004; SLOAN; PARRIS, 2014). Lesões granulomatosas únicas ou múltiplas no SNC denominadas de criptococomas, também são eventualmente observadas, principalmente nas infecções provocadas por *C. gattii* em hospedeiros imunocompetentes (TELLO et al., 2013).

Considerando as manifestações na pele, duas formas clínicas podem ser reconhecidas, a criptococose cutânea primária e a secundária. A criptococose cutânea primária, provocada por inoculação traumática do agente é considerada uma apresentação rara, ocorrendo normalmente de maneira localizada e em indivíduos HIV negativos. Já, a criptococose cutânea secundária, caracteriza-se como doença disseminada com múltiplas lesões, acometendo geralmente pacientes com aids e alta carga fúngica (BIVANCO; MACHADO; MARTINS, 2006; COLOMBO et al., 2014; CONSENSO, 2008; NASSER; NASSER FILHO; VIEIRA, 2011; NEUVILLE et al., 2003).

1.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial da criptococose pode ser realizado através de métodos microbiológicos, histopatológicos, imunológicos e moleculares (LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004; MAZIARZ; PERFECT, 2016).

1.6.1 Métodos microbiológicos

Os métodos microbiológicos compreendem o exame microscópico direto da amostra, a cultura e o emprego de testes bioquímicos para conclusão do gênero e identificação da espécie. As amostras clínicas são diversificadas, entre elas, líquido cefalorraquidiano, sangue, urina, biópsias, aspirados de secreções escarro e outros espécimes respiratórios (COLOMBO et al., 2014; TELLO et al., 2013).

1.6.1.1 Exame microscópico direto

O exame microscópico direto do espécime clínico, em preparações com tinta da china (nanquim), é um método econômico e rápido de diagnóstico inicial da criptococose. Ele é baseado na detecção de células leveduriformes capsuladas com ou sem brotamentos, onde a cápsula apresenta-se sob a forma de um halo claro, contrastando com o fundo negro do corante (Figura 7). A sensibilidade do exame depende da carga fúngica e resultados falsos positivos podem ocorrer devido presença de artefatos ou leveduras capsuladas de outros gêneros, como a *Rhodotorula* (COLOMBO et al., 2014; MAZIARZ; PERFECT, 2016; TELLO et al., 2013; TSUJI; BARBABOSA; RIVERA, 2005).

Além de *C. neoformans* e *C. gattii*, outras espécies do gênero *Cryptococcus* podem apresentar resultados positivos em virtude de também serem capsulados (ARAUJO et al., 2012; TSUJI; BARBABOSA; RIVERA, 2005).



Figura 7. Exame direto de líquido cefalorraquidiano com tinta nanquim, evidenciando criptococos com cápsulas de espessuras variadas em microscopia óptica comum (40x). Seção de Micologia do Laboratório Central de Saúde Pública de Goiás Dr. Giovanni Cysneiros (LACEN-GO).

1.6.1.2 Cultura e testes bioquímicos

O diagnóstico definitivo ou confirmatório da criptococose é realizado através da cultura (CONSENSO, 2008; LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004; TSUJI; BARBABOSA; RIVERA, 2005). Normalmente as culturas positivam entre 48-72 horas, entretanto, recomenda-se incubá-las por até quatro semanas, principalmente em pacientes que receberam tratamento antifúngico (MAZIARZ; PERFECT, 2016).

O crescimento de colônias de criptococos é obtido de maneira satisfatória na maioria dos meios de cultura para isolamento de fungos, exceto nos que contém cicloheximida em concentrações de 0,2 a 0,5%, sendo exemplos o ágar Sabouraud-dextrose (ASD) e o ágar infuso coração-cérebro (BHI). Em ASD, o mais usado rotineiramente, as leveduras desenvolvem-se sob a forma de colônias de textura mucoide e aspecto brilhante, de cor branca a creme, em temperaturas de 25 a 37°C (Figuras 8). A partir do isolamento primário nos meios de cultivo, testes bioquímicos devem ser empregados para concluir a identificação do agente, entre eles: detecção das enzimas fenoxidase e urease, prova de assimilação de carboidratos e quimiotipagem para diferenciação de *C. neoformans* de *C. gattii* (COLOMBO et al., 2014; KURTZMAN, et al., 2011; LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004; PEDROSO et al., 2009; TSUJI; BARBABOSA; RIVERA, 2005).

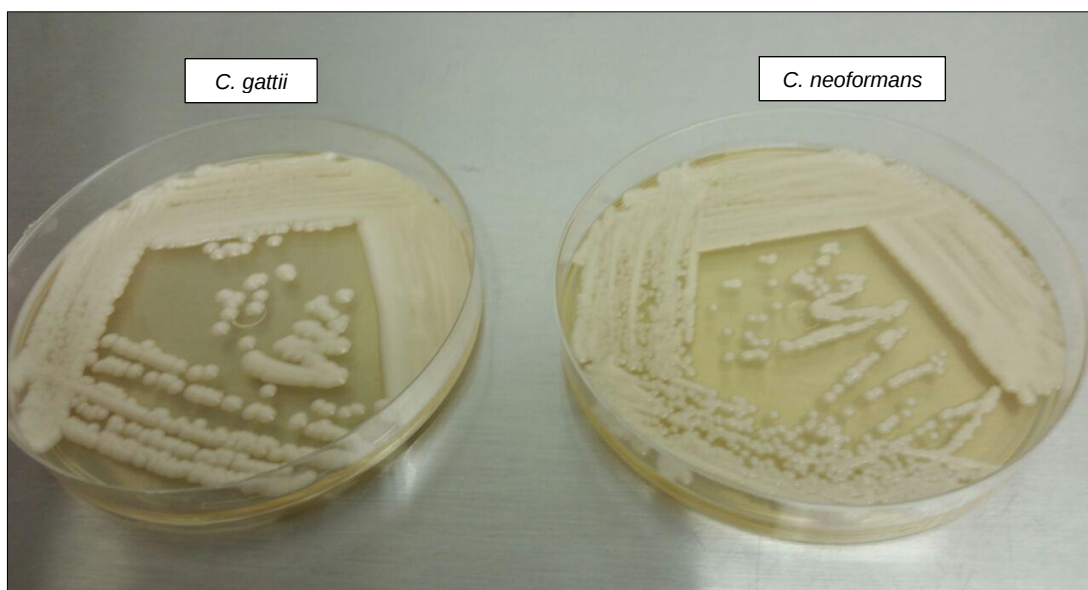


Figura 8. Colônias de *C. gattii* e *C. neoformans* de amostras clínicas em ASD. Seção de Micologia do LACEN-GO.

Em meios contendo substratos difenólicos, como o ágar semente de Níger (NSA), é possível detectar a presença da enzima fenoloxidase em isolados de *C. neoformans* e *C. gattii*, devido síntese de pigmento melanínico. A melanina é expressa através do desenvolvimento de colônias de cor marrom-escura, por ação da enzima nesses substratos (Figura 9) (COLOMBO et al., 2014; LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004; PEDROSO et al., 2009).

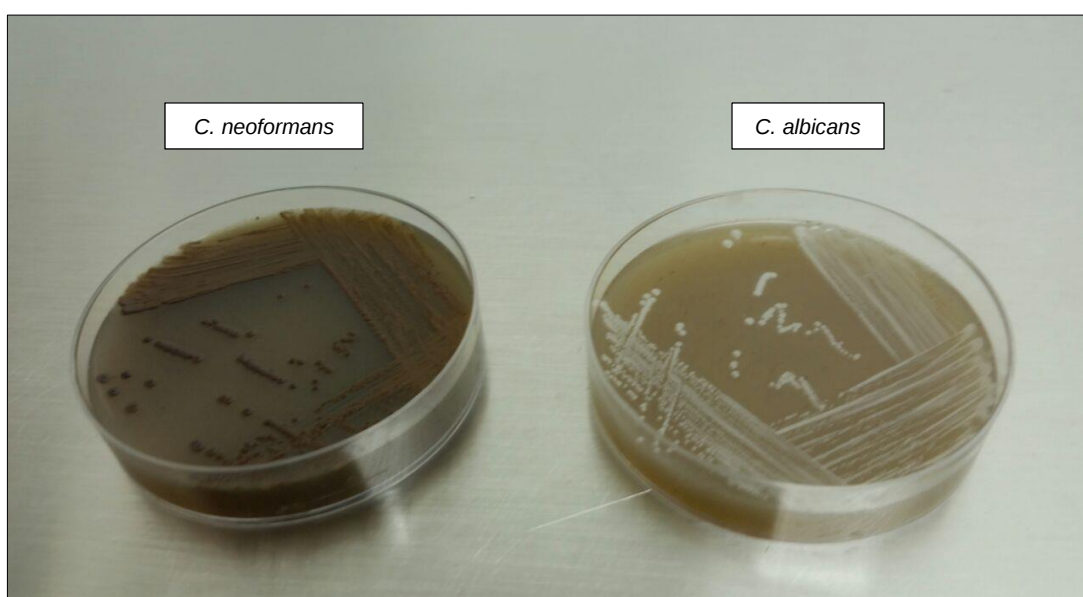


Figura 9. Colônias de *C. neoformans* de amostra clínica e controle negativo - *Candida albicans* ATCC® 10231 (da sigla em inglês *American Type Culture Collection*) em NSA. Seção de Micologia do LACEN-GO.

A produção da enzima urease pelas leveduras do gênero é evidenciada pela hidrólise da ureia quando os isolados são cultivados em ágar ureia de Christensen. Essa hidrólise leva a formação de amônia e carbamato, promovendo alcalinização do meio e a cor parda original do ágar é modificada para a cor rosa (LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004; TSUJI; BARBABOSA; RIVERA, 2005) (Figura 10).

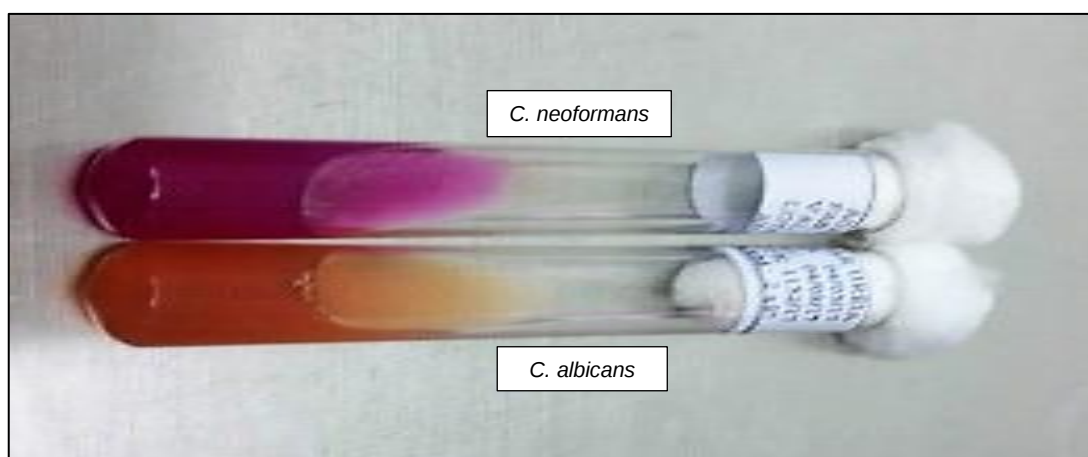


Figura 10. Isolado clínico de *C. neoformans*-urease positivo e controle negativo - *Candida albicans* ATCC® 10231 em ágar ureia de Christensen. Seção de Micologia do LACEN-GO.

Todas as espécies de *Cryptococcus* possuem habilidade de assimilar carboidratos, a qual pode ser comprovada laboratorialmente por método manual ou por sistemas comerciais automatizados (p.ex. cartas de identificação do aparelho Vitek® 2 da Biomérieux) (Figura 11) ou semiautomatizados (p.ex. API 20C AUX® da Biomérieux) (MC TAGGART et al., 2011; TSUJI; BARBABOSA; RIVERA, 2005).

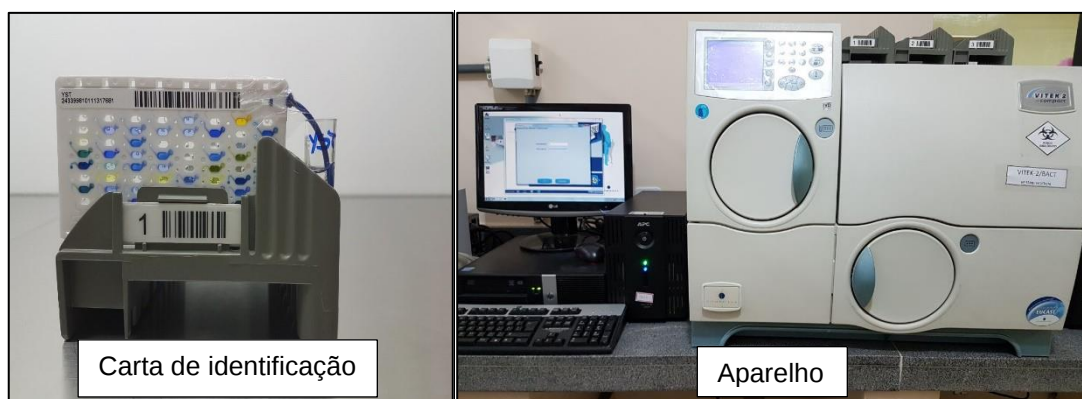


Figura 11. Método automatizado - Sistema Vitek® 2 Compact da Biomérieux de assimilação de carboidratos para *Cryptococcus*. Seção de Micologia do LACEN-GO.

Concluindo, a diferenciação de *C. neoformans* de *C. gattii* é realizada por quimiotipagem através do meio de L-canavanina, glicina e azul de bromotimol (CGB) (KWON-CHUNG; POLACHECK; BENNETT, 1982; LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004; TELLO et al., 2013). Neste meio, *C. gattii* apresenta capacidade de assimilar glicina e de ser resistente a canavanina, promovendo a alcalinização do meio pela liberação de amônia, modificando a cor do meio de amarelo esverdeado para azul cobalto. Ao contrário, *C. neoformans* é inibido pela canavanina e apresenta baixa capacidade de assimilar glicina, mantendo o meio na cor original (Figura 12) (KWON-CHUNG; POLACHECK; BENNETT, 1982).

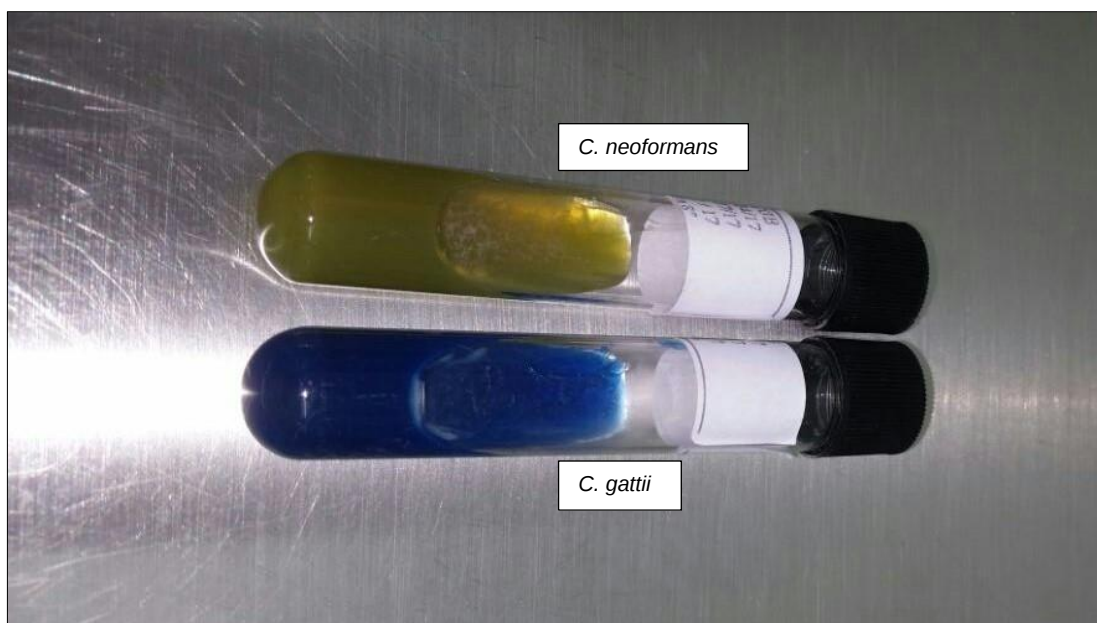


Figura 12. *C. neoformans* e *C. gattii* de amostras clínicas em meio CGB. Seção de Micologia do LACEN-GO.

1.6.2 Métodos histopatológicos

Cortes histológicos da pele, tecidos do pulmão, cérebro e de outros órgãos, podem evidenciar a levedura e cápsula de *C. neoformans* e *C. gattii* e permitir análise da resposta inflamatória das lesões provocadas por esses agentes através de colorações especiais (COLOMBO et al., 2014; MAZIARZ;

PERFECT, 2016). Histopatológicos corados pelo mucicarmim de Meyer, que favorecem o reconhecimento da cápsula, tingindo-a de vermelho, especialmente quando sua espessura é pequena. O depósito de melanina na parede do fungo pode ser evidenciado pela coloração de Fontana Masson, auxiliando a identificação da levedura nos tecidos. Já a hematoxilina-eosina, além de evidenciar a cápsula, permite análise do padrão das lesões criptocócicas (LAZÉRA; IGREJA; WANKE, 2004).

1.6.3 Métodos imunológicos

Os testes imunológicos convencionais de aglutinação em látex e imunoensaio enzimático permitem uma detecção rápida, sensível e específica do antígeno criptocócico, principalmente em amostras de soro ou líquido. Em raras ocasiões, resultados falso-positivos podem ocorrer no teste de aglutinação em látex, devido a reações cruzadas com fator reumatoide e outros microrganismos. Reações falso-negativas também são raras, estando associadas por exemplo, a títulos altos de antígeno (efeito prozona) (MAZIARZ; PERFECT, 2016; MITCHELL; PERFECT,1995). O imunoensaio enzimático não reage com fator reumatoide e nem é afetado por efeito prozona, no entanto sua execução é mais demorada e laboriosa que a aglutinação em látex (CONSENSO, 2008; MITCHELL; PERFECT,1995).

Recentemente, um novo teste denominado ensaio de fluxo lateral de antígeno criptocócico (CrAg LFA) foi aprovado para uso em soro, líquido e urina. Trata-se de um método imunocromatográfico de baixo custo com execução simples e rápida, que tem sido recomendado pela Organização Mundial da Saúde para o diagnóstico precoce da meningite criptocócica em pacientes infectados pelo HIV (COLOMBO et al., 2014; MAZIARZ; PERFECT, 2016; WHO, 2011).

1.6.4 Métodos moleculares

Várias técnicas baseadas na análise do ácido desoxirribonucleico (DNA) tem sido utilizadas para caracterizar geneticamente as espécies de *C. neoformans* e *C. gattii*, a citar: reação de polimerase em cadeia (PCR) *fingerprinting*, amplificação aleatória de DNA polimórfico (RAPD), polimorfismo de tamanho de fragmentos amplificados (AFLP), fragmentos de DNA gerados por enzimas de restrição (RFLP) e a tipagem por sequenciamento de multilocus (MLST) (BOEKHOUT et al., 2001; LIN; HEITMAN, 2006; LITVINTSEVA et al., 2006; MEYER et al., 2003).

A utilização de ferramentas de biologia molecular são importantes para estudos epidemiológicos, ações de vigilância e adoção medidas profiláticas frente a doença (TRILLES et al., 2008). Ajudam também na compreensão da dinâmica do agente etiológico na população humana, identificando a origem de uma infecção, monitorando o surgimento de cepas resistentes a antifúngicos e identificando possíveis alvos antigênicos para ação de futuras vacinas (SOLL, 2000).

1.7 TRATAMENTO

A escolha do tratamento da criptococose depende do local da infecção, do estado imunológico do hospedeiro, da possível doença de base e da toxicidade dos medicamentos (PERFECT et al., 2010; SAAG et al. 2000). Normalmente os antifúngicos preconizados são AmB, 5-FC e FZ, podendo ser utilizados isoladamente ou de forma combinada (PERFECT; BICANIC, 2015). Azólicos de amplo espectro (posaconazol e voriconazol) podem ser úteis em casos de recaída, enquanto que as equinocandinas (anidulafungina, caspofungina e micafungina) não apresentam atividade *in vivo* contra isolados de *Cryptococcus* (PERFECT et al., 2010).

Na meningoencefalite criptocócica, o tratamento é dividido em três fases: indução, consolidação e manutenção. Na indução, um regime de tratamento contendo anfotericina B deoxicolato (AmB-D) combinada com 5-FC ou FZ por duas semanas é recomendado tanto pela Organização Mundial da Saúde (OMS) quanto pela Sociedade Americana de Doenças Infecciosas (IDSA). A AmB-D pode ser substituída por suas formulações lipídicas (complexo lipídico/ABLC e lipossomal/L-AmB) em pacientes com

disfunção renal ou predispostos à ela. Segue-se a terapia de consolidação de oito semanas com FZ 400-800 mg/dia e subsequente manutenção com 200 mg/dia de FZ por seis meses a um ano e/ou até que a imunidade do paciente seja restaurada (PERFECT et al., 2010; WHO, 2011).

Para as formas clínicas de criptococemia ou disseminação (acometimento de pelo menos dois locais não contíguos ou evidências laboratoriais de carga fúngica elevada) empregar o mesmo tratamento da meningoencefalite (PERFECT et al., 2010).

Em infecções localizadas, onde o comprometimento do SNC, a fungemia e fatores de risco imunossupressores não estão presentes, a monoterapia com azólicos, principalmente o FZ é recomendada (PERFECT et al., 2010; WHO, 2011).

Recaídas da infecção após tratamento inicial não são incomuns, podendo ser provocadas por demora no início do tratamento, resistência às drogas, indisponibilidade de profilaxia secundária, não adesão a TARV, coinfeção com diferentes cepas ou cepas geneticamente modificadas durante a terapia de manutenção (GULLO et al., 2013; JONGWUTIWES; SUNGKANUPARPH; KIERTIBURANAKUL; 2008; ILLNAIT-ZARAGOZI et al, 2010).

2 JUSTIFICATIVA

A criptococose é uma micose sistêmica que tem na meningoencefalite a forma mais grave e frequente da infecção, sendo causada principalmente por *C. neoformans* e *C. gattii*.

Os índices de morbidade e letalidade da criptococose, mesmo com o surgimento de novas abordagens terapêuticas, ainda permanecem elevados, isso dada a alta frequência com que é encontrada em pacientes imunodeprimidos suscetíveis, sobretudo os portadores de HIV.

Em 06 de maio de 2013 através da Resolução Nº 004/2013/SES, essa micose foi instituída como Doença de Notificação Compulsória nos municípios goianos frente ao elevado número de casos ocorridos. O Hospital de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad da Secretaria Estadual de Saúde de Goiás (HDT/HAA-SES/GO) foi constituído unidade de referência para o atendimento dos pacientes portadores de criptococose, tendo como suporte de diagnóstico o Laboratório Central de Saúde Dr. Giovanni Cysneiros (LACEN-GO).

Tendo em vista a relevância do assunto e a escassez de dados clínicos e epidemiológicos, estudos que retratam a criptococose e seus agentes tornam-se necessários para melhor conhecimento e adoção de medidas de controle da doença em Goiás.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar os aspectos clínicos-epidemiológicos da criptococose no estado de Goiás, nos anos de 2011 a 2014.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para cumprir o objetivo geral, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar o perfil epidemiológico dos pacientes com criptococose atendidos em hospital de referência para o agravo em Goiás;
- Descrever os aspectos clínicos dos casos de criptococose, a conduta terapêutica e a evolução da doença;
- Determinar a frequência de *C. neoformans* e *C. gattii* relacionados com os casos de criptococose diagnosticados em laboratório de referência do estado de Goiás.

4.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal, descritivo, com dados clínicos-epidemiológicos coletados retrospectivamente.

4.2 LOCAL E PERÍODO

O estudo foi realizado na Seção de Micologia do LACEN-GO, na Divisão de Estatística e Arquivo Médico (DEAM) do HDT/HAA e na empresa terceirizada para guarda de prontuários, denominada Arquivo Off. Nesse locais foram acessados os registros dos casos de criptococose ocorridos no HDT/HAA e diagnosticados laboratorialmente no LACEN-GO entre maio de 2011 a maio de 2014.

O HDT/HAA é uma unidade da Secretaria Estadual de Saúde de Goiás (SES-GO) referência terciária para doenças infecciosas e dermatológicas, prestando atendimento eletivo e de emergência de média e alta complexidade. O LACEN-GO é uma unidade de referência laboratorial em agravos de interesse à saúde pública da SES-GO que atua nas áreas de biologia médica, meio ambiente, controle de qualidade em produtos e saúde do trabalhador em articulação com as vigilâncias epidemiológica, sanitária, ambiental e rede estadual de assistência médica.

4.3 SUJEITOS DA PESQUISA

Foram incluídos os casos de pacientes com criptococose, residentes em municípios goianos, atendidos no HDT/HAA e cujas culturas de materiais biológicos foram positivas para *C. neoformans* e *C. gattii* no LACEN-GO. Nos casos onde houve recaída (cultura positiva após seis meses de tratamento específico) considerou-se os dados somente do

primeiro

diagnóstico.

Critérios de exclusão: pacientes residentes em outros estados e prontuários com dados clínicos incompletos (ausência de informações sobre sinais e sintomas da criptococose e realização da sorologia para o HIV).

4.4 PROCEDIMENTOS PARA COLETA DE DADOS

A coleta de dados foi iniciada pela consulta dos livros de registros da Seção de Micologia e do banco de dados digitalizado, denominado Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL) do LACEN-GO, sendo as informações registradas na Ficha do Paciente (Apêndice A). Foram verificadas as culturas positivas para espécies de *Cryptococcus* no período correspondente, obtendo-se os seguintes dados: identificação do paciente, idade, sexo, identificação da cultura, espécime clínico positivo, nome do agente etiológico, unidade de saúde procedente e número de prontuário. Esse procedimento ocorreu em novembro de 2015.

Entre dezembro de 2015 e janeiro de 2016 foram acessados os prontuários médicos dos pacientes do HDT/HAA triados no LACEN-GO, obtendo-se os dados clínicos e o restante dos demográficos. Houve acompanhamento e treinamento por médico infectologista local para as 15 primeiras análises de prontuários. Os prontuários de pacientes vivos estavam localizados na DEAM do HDT/HAA e dos que foram a óbito no Arquivo Off. As seguintes variáveis foram analisadas:

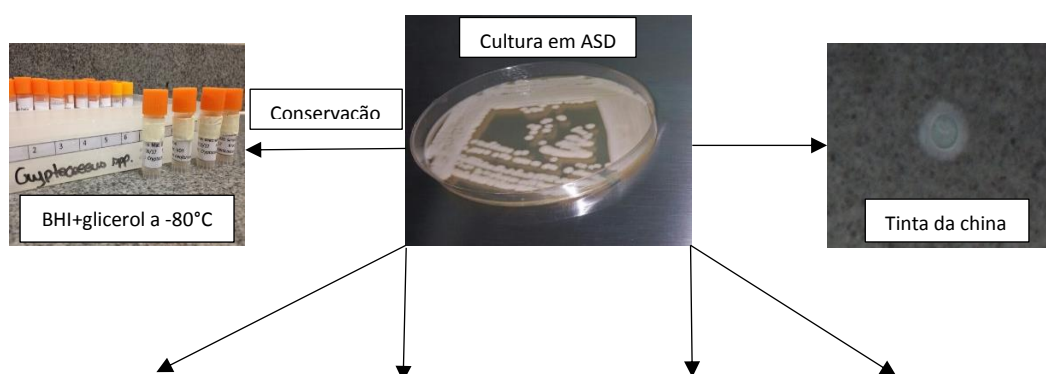
- a) Demográficas: procedência, naturalidade;
- b) Condições clínicas: forma clínica, sinais e sintomas;
- c) Infecção pelo HIV;
- d) Outras comorbidades/fatores de risco: transplantes de órgãos, uso de medicação imunossupressora, diabetes mellitus, neoplasias, doenças reumáticas e outras;
- e) Tratamento: antifúngicos utilizados;

- f) Dados complementares: terapia antirretroviral, evolução, sequelas;
- g) Exames laboratoriais: micológico direto, contagem de CD4, CD8 e carga viral;

4.5 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

O diagnóstico laboratorial da criptococose no LACEN-GO constituiu de metodologia manual e automatizada em bases fenotípicas (segundo KURTZMAN et al., 2011), a partir da cultura do material clínico em ASD. Após isolamento da levedura seguiu-se a realização de provas de identificação constituídas de: visualização da cápsula em tinta da china, assimilação de açúcares (através do aparelho *Vitek*®2 *Compact* da Biomérieux) e detecção das enzimas urease (ágar ureia) e fenoloxidase (NSA). A diferenciação entre *C. neoformans* e *C. gattii* foi feita em duplicata por quimiotipagem, através do meio CGB. No controle de qualidade foram utilizadas as cepas de referência *C. albicans* (ATCC® 10231), *C. albicans* (ATCC® 14053), *C. neoformans* (ATCC® 90112) e *C. gattii* (ATCC® 32269).

Os isolados recuperados durante o procedimento de cultura estão identificados e estocados em *freezer* a -80°C, dentro de criotubos contendo 1,5 ml de caldo BHI (infuso coração-cérebro) acrescido com glicerol a 30% (Figura 13).



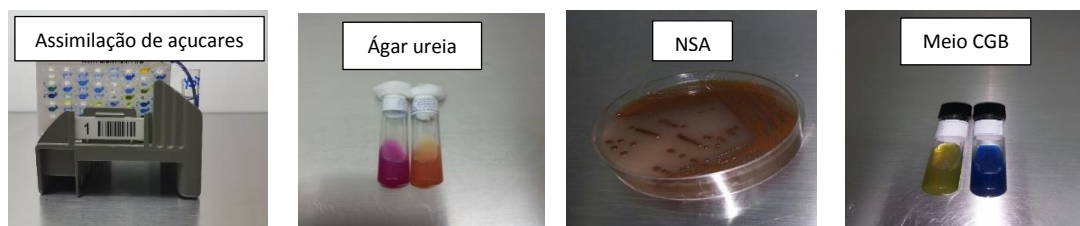


Figura 13. Diagrama de fluxo das etapas dos procedimentos laboratoriais realizados. Seção de Micologia do LACEN-GO.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizado cálculo amostral a partir de poder de estudo de 95 % e aceitando erro alfa de 5%, no qual indicou que o tamanho da amostra deveria ser de aproximadamente 139 casos. Para realização do cálculo, referências publicadas nacionalmente foram consultadas, considerando então a prevalência da criptococose em cerca de 10 % nos pacientes com aids, grupo com o maior número de casos da doença, inclusive no HDT/HAA (BRASIL, 2014; SOUZA et al., 2013; WANKE; LAZÉRA; NUCCI, 2000). Foram selecionados e analisados 130 casos. Outros 14 casos tiveram que ser excluídos por não atenderem aos critérios de inclusão.

Os dados foram tabulados no programa Microsoft® Excel 2013 e a análise foi realizada pelo programa SPSS® (da sigla em inglês *Statistical Package for the Social Sciences for Windows®*, versão 22a.0) por meio de estatística descritiva e dos testes Exato de Fisher e Qui-Quadrado de Pearson. Adotou-se como nível de significância para os testes estatísticos um valor de 5% ($p \leq 0,05$).

4.7 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente trabalho de pesquisa está integrado a um projeto maior intitulado: Caracterização Fenotípica, Molecular e Epidemiológica de Isolados Clínicos de *Cryptococcus* spp. do Estado de Goiás. Ele seguiu as recomendações da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (CEP-UFG), via Plataforma Brasil, em 09 de outubro de 2015, CAAE: 48945015.8.0000.5083 (Anexo A). Também recebeu parecer

consubstanciado favorável da instituição coparticipante, CEP-HDT/HAA, em 19 de novembro de 2015, CAAE: 48945015.8.3001.04 (Anexo B).

Os dados de registros laboratoriais e de prontuários coletados em formulários específicos (ficha do paciente) foram utilizados para compor uma tabela eletrônica. No ato de compor a tabela, os nomes dos pacientes foram

substituídos por um código de identificação (código numérico unívoco), garantido a confidencialidade dos mesmos. Esses dados estão sob responsabilidade do pesquisador principal por um período de até cinco anos, podendo ser utilizados em publicações científicas pelo grupo de pesquisadores envolvidos. Findo o período de cinco anos, as fichas dos pacientes e os arquivos digitais armazenados serão respectivamente, incinerados e deletados.

Houve solicitação de dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) por se tratar de estudo observacional, não intervencionista (ausência de riscos físicos e/ou biológicos para o paciente), com levantamento retrospectivo de dados em registros clínicos e laboratoriais, dispensando o contato direto com o sujeito da pesquisa (Apêndice B).

5 RESULTADOS

Foram obtidos, no período delimitado do estudo, 144 registros de pacientes com cultura positiva para *Cryptococcus* no LACEN-GO. Considerou-se apenas um registro por paciente e os dados coletados referiram-se ao primeiro isolamento do agente. Nessa etapa, oito registros foram excluídos por serem de pacientes procedentes de outras unidades de saúde que não o HDT/HAA. No HDT/HAA (DEAM e Arquivo Off) foram analisados os prontuários dos 136 pacientes selecionados no LACEN-GO. Seis prontuários foram excluídos nessa fase, sendo três de pacientes residentes em outros estados e outros três com dados clínicos incompletos para a criptococose e sem relato da realização de sorologia para o HIV. Dessa forma, um total de 130 prontuários foram incluídos no presente estudo (Figura 14).

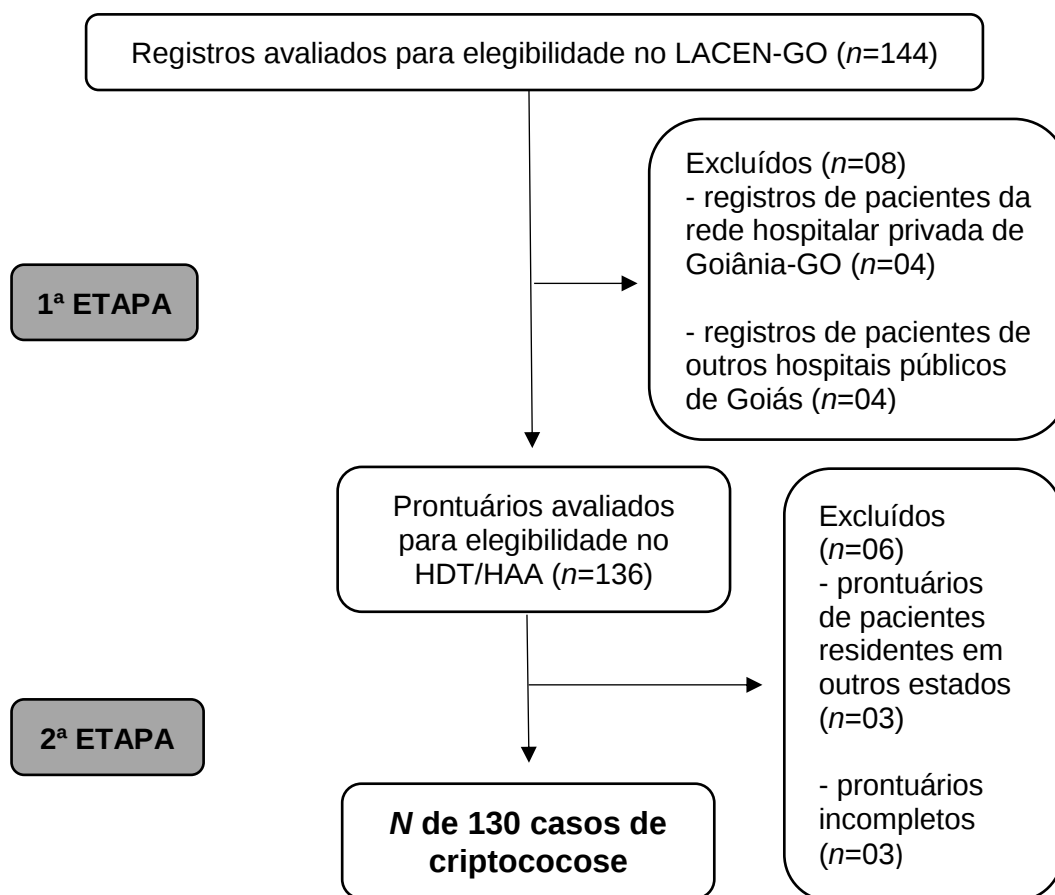


Figura 14. Diagrama de fluxo das etapas de busca e de elegibilidade de registros laboratoriais e prontuários médicos no LACEN-GO e HDT/HAA.

Dos 130 pacientes com diagnóstico de criptococose, os resultados de sorologia para o HIV mostraram que: 116 (89,2%) eram HIV positivos e 14 (10,8%) HIV negativos.

Quanto ao sexo, 106 (81,5%) pacientes eram do sexo masculino e na estratificação entre pacientes infectados e não infectados pelo HIV, também houve predomínio da criptococose no sexo masculino (Tabela 2).

A idade variou de 19 a 80 anos (média 39,32 anos e desvio padrão 11,39) e o maior número de casos foi observado na faixa etária de 31 a 40 anos (40,0%). Entre os infectados pelo HIV o maior número de casos foi observado no intervalo de 31 a 40 anos, enquanto no grupo dos HIV negativos houve predomínio na faixa etária acima do 50 anos (Tabela 2).

Em relação a procedência dos pacientes observamos que 122 (93,8%) eram de áreas urbanas e oito (6,2%) da zona rural.

A maioria dos casos ocorreram em pacientes residentes em Goiânia (30,8%) e os demais casos foram distribuídos entre 59 municípios goianos (Tabela 2).

No total, 106 (81,5%) pacientes eram naturais do estado de Goiás e 24 (18,5%) de outros estados brasileiros. Segundo a infecção pelo vírus da aids, 96 (82,8%) soropositivos e 10 (7,14%) soronegativos eram nascidos em Goiás (Tabela 2).

Além da infecção pelo HIV, outros fatores de risco que podem favorecer o desenvolvimento da criptococose foram avaliados e encontrou-se pacientes sob uso prolongado de medicamentos imunossupressores, diabetes mellitus e neoplasias.

Todos os pacientes (nove) em uso crônico de imunossupressores eram HIV negativos e tinham patologia de base ($p < 0,001$ em relação aos HIV positivos). A maioria apresentava hanseníase (cinco), um artrite reumatoide, um espondilite anquilosante, um asma e outra doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). As neoplasias encontradas foram: carcinoma espinocelular de boca, carcinoma invasivo de colo uterino, câncer de orelha e sarcoma de Kaposi, com um caso cada. Não havia descrição da conduta terapêutica (quimioterapia, radioterapia, remoção cirúrgica) adotada para os casos de neoplasias (Tabela 3).

Tabela 2. Dados demográficos de pacientes com criptococose no estado de Goiás, de acordo com infecção pelo HIV.

Dados Demográficos	Infecção pelo HIV				Total=130	
	HIV(+) =116*		HIV(-) =14†			
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Sexo						
Masculino	95	81,9	11	78,6	106	81,5
Feminino	21	18,1	3	21,4	24	18,5
Idade (anos)						
Variação	19-67		25-80		19-80	
Média/DP‡	38,08/9.82		49,64/17.50		39,32/11.39	
10 a 20	1	0,9	0	0,0	1	0,8
21 a 30	25	21,6	2	14,3	27	20,8
31 a 40	49	42,2	3	21,4	52	40,0
41 a 50	29	25,0	3	21,4	32	24,6
Acima de 50	12	10,3	6	42,9	18	13,8
Zona						
Urbana	111	95,7	11	78,6	122	93,8
Rural	5	4,3	3	21,4	8	6,2
Procedência						
Goiânia	36	31,0	4	28,6	40	30,8
Ap. Goiânia§	9	7,8	-	0,0	9	6,9
Morrinhos	4	3,5	-	0,0	4	3,1
Inhumas	3	2,6	-	0,0	3	2,3
Minaçu	2	1,7	1	7,1	3	2,3
Outros¶	62	53,4	9	64,3	71	54,6
Naturalidade						
Goiás	96	82,8	10	71,4	106	81,5
Outros estados	20	17,2	4	28,6	24	18,5

Equivale a *89,2% de HIV(+) e †10,8% de HIV(-); ‡DP- desvio padrão; §Abreviatura de Aparecida de Goiânia; ¶Outros 55 municípios goianos. Fonte: Prontuários – HDT/HAA.

Tabela 3. Fatores de risco em pacientes com criptococose do estado de Goiás, de acordo com infecção pelo HIV.

Fatores de Risco	Infecção pelo HIV				Total=130		
	HIV(+) =116*		HIV(-) =14†				
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>p</i>
Uso crônico de‡							
Imunossupressor							
Sim	0	0,0	9	64,3	9	6,9	<0,001§
Não	116	100,0	5	35,7	121	93,1	
Diabetes mellitus							
Sim	2	1,7	0	0,0	2	1,5	1,00
Não	114	98,3	14	100,0	128	98,5	
Neoplasia							
Sim	4	3,4	0	0,0	4	3,1	1,00
Não	112	96,6	14	100,0	126	96,9	

Equivale a *89,2% de HIV(+) e †10,8% de HIV(-); ‡Corticoides associado ou não com Talidomida para cinco casos de hanseníase e corticoides para casos de artrite reumatoide, espondilite anquilosante, doença pulmonar obstrutiva crônica e asma; §Teste Qui-Quadrado de Pearson; ||Teste Exato de Fisher. Fonte: Prontuários – HDT/HAA.

O tempo transcorrido entre o aparecimento dos sintomas relacionados à criptococose e o atendimento no HDT/HAA para diagnóstico da doença foi expresso nos prontuários, variando de três a 84 dias. O maior número de casos constitui de pacientes atendidos com cerca de até sete dias de sintomas (39; 30,0%). (Figura 15). Foram excluídos da análise 10 (7,7%) prontuários de HIV positivos que não relatavam a data de início dos sintomas.

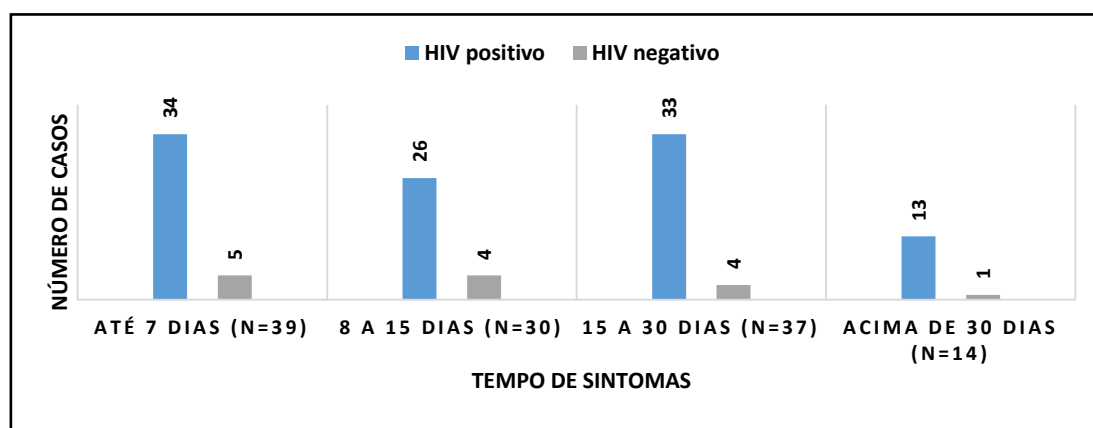


Figura 15. Tempo transcorrido entre o aparecimento de sintomas relacionados à criptococose e o atendimento no HDT/HAA. Fonte: Prontuários – HDT/HAA.

Os principais sintomas descritos no total de casos foram: cefaleia (68,5%), febre (65,4%); emagrecimento (46,2%), tosse (38,5%) e vômito (36,9%). A análise estatística mostrou significância para a ocorrência de emagrecimento ($p=0,02$) e diarreia ($p=0,02$) entre os HIV positivos e confusão mental ($p=0,002$), convulsão ($p=0,02$) e rigidez de nuca ($p=0,05$) nos HIV negativos (Tabela 4).

Tabela 4. Sintomatologia de pacientes com criptococose do estado de Goiás, de acordo com infecção pelo HIV.

Sintomas	Infecção pelo HIV				Total=130		
	HIV(+) =116*		HIV(-) =14†				
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>p</i>
Manifestações Gerais							
Febre	75	64,7	10	71,4	85	65,4	0,77 [§]
Emagrecimento	58	50,0	2	14,3	60	46,2	0,02 [§]
Astenia	40	34,5	1	7,1	41	31,5	0,06 [§]
Hiporexia	34	29,3	2	14,3	36	27,7	0,06 [§]
Diarreia	31	26,7	0	0,0	31	23,8	0,02 [§]
Manifestações Neurológicas							
Cefaleia	78	67,2	11	78,6	89	68,5	0,55 [§]
Vômito	44	37,9	4	28,6	48	36,9	0,57 [§]
Confusão mental	33	28,7	10	71,4	43	33,3	0,002 [§]
DNM [‡]	30	25,9	3	21,4	33	25,4	1,00 [§]
Rigidez de nuca	23	19,8	6	42,9	29	22,3	0,05
Náusea	20	17,2	1	7,1	21	16,2	0,33
Alteração visual	16	13,8	1	7,1	17	13,1	0,69 [§]
Convulsão	10	8,6	4	28,6	14	10,8	0,02
Manifestações Respiratórias							
Tosse	46	39,7	4	28,6	50	38,5	0,57 [§]
Dispneia	32	27,6	2	14,3	34	26,2	0,29
Expectoração	10	8,6	0	0,0	10	7,7	0,60 [§]

Equivale a *89,2% de HIV(+) e †10,8% de HIV(-); ‡DNM- déficit neurológico motor; §Teste Exato de Fisher; ||Teste Qui-Quadrado de Pearson. Fonte: Prontuários – HDT/HAA.

Quanto à forma clínica, no total de pacientes, a meningoencefalite foi a mais encontrada (54,6%), seguida de meningoencefalite e criptococcemia associadas (20,8%), criptococcemia (19,2%), pulmonar (2,3%), renal (1,5%), cutânea (0,8%) e ganglionar (0,8%). Na separação dos grupos, segundo a

infecção pelo o vírus da aids, a meningoencefalite também predominou como forma mais frequente tanto em HIV positivos como negativos (Tabela 5).

Tabela 5. Forma clínica da criptococose de pacientes do estado de Goiás, de acordo com infecção pelo HIV.

Forma Clínica	Infecção pelo HIV				Total=130		
	HIV(+) =116*		HIV(-) =14 [†]				
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>p</i>
Meningoencefalite	62	53,4	9	64,3	71	54,6	0,57 [§]
Mn [‡] +criptococcemia	24	20,7	3	21,4	27	20,8	0,95
Criptococcemia	24	20,7	1	7,1	25	19,2	0,30 [§]
Pulmonar	3	2,6	0	0,0	3	2,3	1,00 [§]
Renal	2	1,7	0	0,0	2	1,5	1,00 [§]
Cutânea	0	0,0	1	7,1	1	0,8	0,11 [§]
Ganglionar	1	0,9	0	0,0	1	0,8	1,00 [§]

Equivale a *89,2% de HIV(+) e [†]10,8% de HIV(-); [‡]Mn - meningoencefalite; [§]Teste Exato de Fisher; ^{||}Teste Qui-Quadrado de Pearson. Fonte: Prontuários – HDT/HAA.

A criptococose foi considerada como doença definidora de aids em 48/81 (59,3%) casos de pacientes HIV positivos com criptococose extrapulmonar (Figura 16). Para esta análise, houve a exclusão de três casos com foco pulmonar, sem evidência de disseminação para outros sítios e 32 casos por não haver dados suficientes em prontuários que pudessem relacionar a criptococose ou outro agravo como definidor de aids.

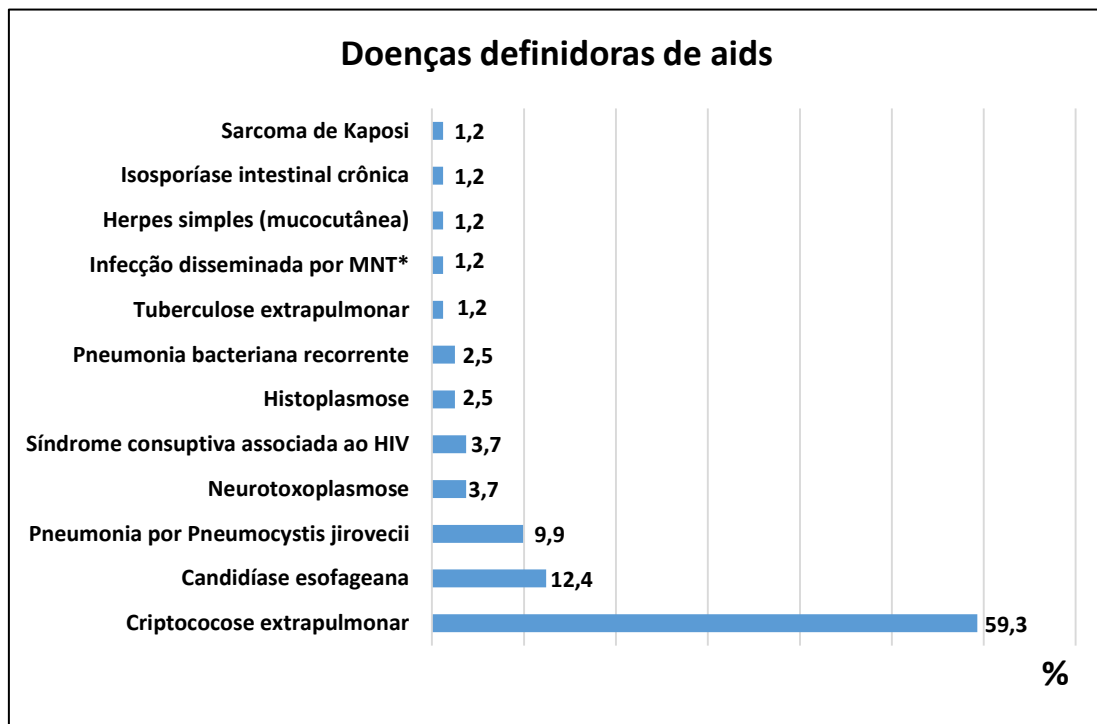


Figura 16. Doenças definidoras de aids em pacientes com criptococose. *MNT- micobactéria não tuberculosa. Fonte: Prontuários – HDT/HAA.

No total, 77 (59,2%) pacientes com criptococose apresentavam coinfeções. Considerando o grupo dos HIV positivos, 72 (62,1%) pacientes tiveram coinfeção, sendo a mais frequente a candidíase oral/esofagiana (28,4%) seguida da hepatite (6,0%) (Figura 17).

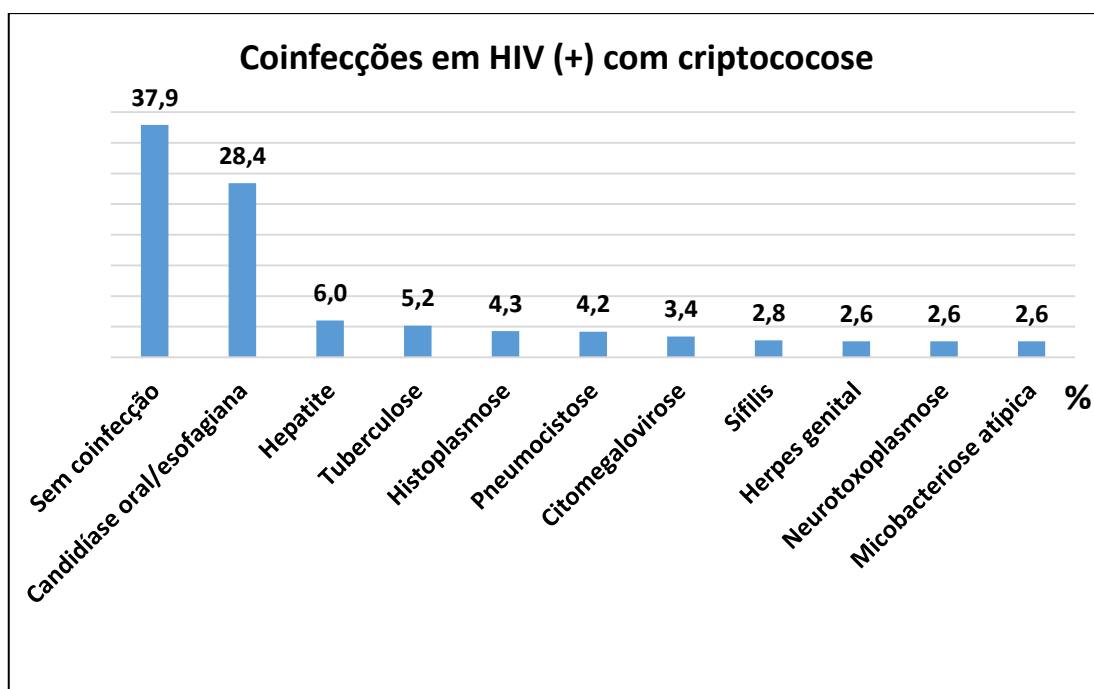


Figura 17. Relação de coinfecções em pacientes HIV positivos com criptococose.
Fonte: Prontuários – HDT/HAA.

Entre os HIV negativos, cinco (35,7%) pacientes tiveram coinfecção, todos eles com hanseníase (Figura 18).

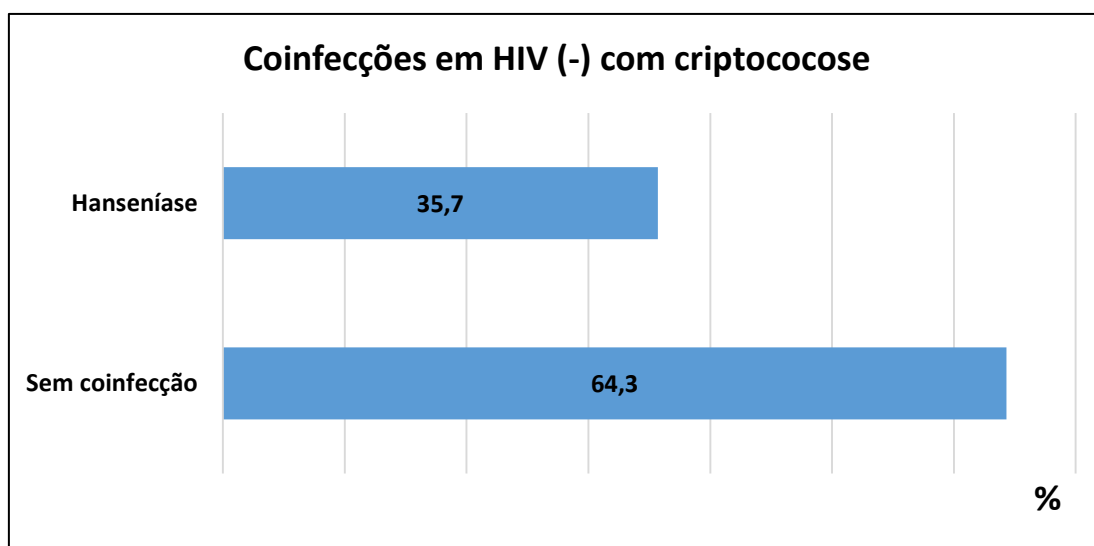


Figura 18. Relação de coinfecções em pacientes HIV negativos com criptococose.
Fonte: Prontuários – HDT/HAA.

Em relação aos dados laboratoriais, o exame micológico direto foi efetuado em 89,8% (88/98) dos líquidos cefalorraquidianos, com positividade de 95,5% quando comparados com o isolamento do agente em cultura.

As principais amostras clínicas encaminhadas para cultura de fungos foram: líquido cefalorraquidiano (62,4%) e sangue (33,1%). Em 27 casos

houve solicitação simultânea de cultura para fungos no sangue e no líquido cefalorraquidiano do mesmo paciente, dessa forma, nos 130 casos foram coletadas 157 amostras biológicas. As demais amostras foram urina (1,3%), líquido pleural (0,6%), aspirado traqueal (0,6%), lavado broncoalveolar (0,6%), biópsia de pele (0,6%) e biópsia de gânglio (0,6%).

Quanto às espécies isoladas e identificadas na cultura, 122 (93,8%) eram *C. neoformans* e oito (6,2%) *C.gattii*. Houve significância estatística do isolamento de *C.neoformans* em HIV positivos ($p<0,001$) (Tabela 6).

Tabela 6. Espécies de *Cryptococcus* envolvidas nos casos de criptococose de Goiás, de acordo com infecção pelo HIV.

Espécies	Infecção pelo HIV				Total=130		
	HIV(+) =116*		HIV(-) =14†				
	n	%	n	%	n	%	p
<i>C. neoformans</i>	112	96,6	10	71,4	122	93,8	<0,001‡
<i>C.gattii</i>	4	3,4	4	28,6	8	6,2	

Equivale a *89,2% de HIV(+) e †10,8% de HIV(-); ‡Teste Qui-Quadrado de Pearson.
Fonte: Registros do LACEN-GO.

Foi avaliado o uso de TARV pelos pacientes HIV positivos, segundo a data do diagnóstico da criptococose e observamos que 14 (12,1%) pacientes estavam em uso regular de terapia antirretroviral, 34 (29,3%) em uso irregular e 68 (58,6%) sem relato de uso. Nos pacientes sem relato de uso comparou-se a data do diagnóstico do HIV com a data do diagnóstico da criptococose. Desses 68 pacientes, três (4,4%) tiveram diagnóstico da criptococose antes do diagnóstico do HIV, 20 (29,4%) tiveram no mesmo dia, em 10 (14,7%) o diagnóstico do HIV ocorreu de um a sete dias antes da criptococose, em três (4,4%) pacientes de oito a 14 dias antes, em 11 (16,2%) pacientes de 15 a 30 dias antes e em 21 (30,9%) o diagnóstico do HIV ocorreu acima de 30 dias antes do diagnóstico da criptococose (Figura 19).

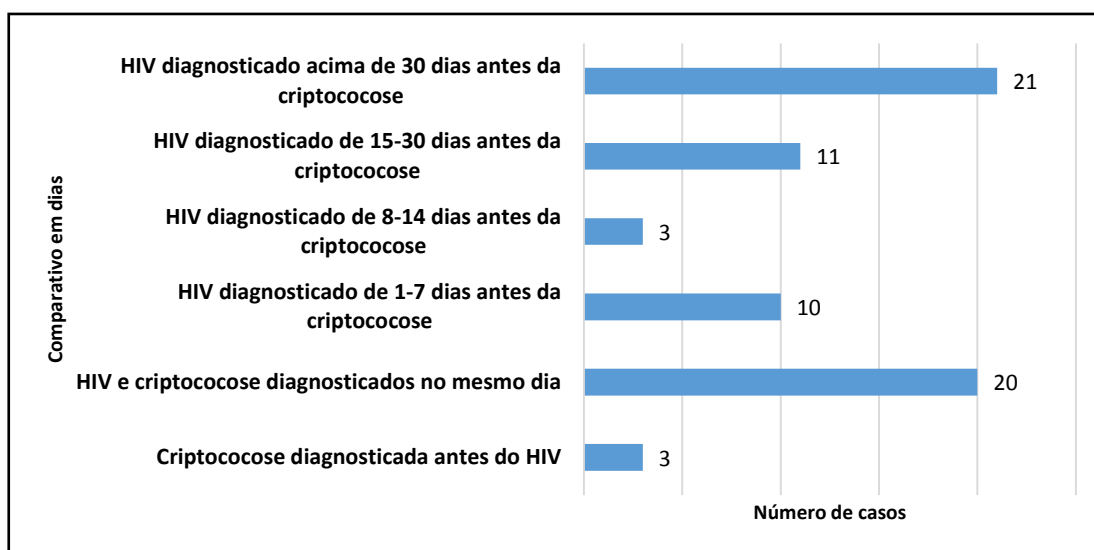


Figura 19. Comparação entre as datas de diagnóstico do HIV e da criptococose em pacientes sem relato de uso de TARV. Fonte: Registros do LACEN-GO e Prontuários – HDT/HAA.

As contagens de células T CD4 e a carga viral do HIV foram efetuadas em 103 (79,2%) pacientes. Os níveis sanguíneos de CD4 variaram de 2 a 367 células/mm³ (média 58,66 células/mm³) e em 81,6% dos pacientes o resultado foi abaixo de 100 células/mm³, enquanto a carga viral variou de 41 a 6.474.365 cópias/ml (média 282.403,83 cópias/ml).

Ao avaliar a conduta terapêutica para criptococose na fase de indução, 119 (91,5%) pacientes totais fizeram uso de antifúngicos e 11 (8,5%) enquadraram-se no critério sem relato de uso. A maioria utilizou AmB-D isolada (50,8%), seguida de sua associação com FZ (31,5%). Houve ainda relatos de uso de L-AmB (6,9%), L-AmB associada a FZ (1,5%) e FZ isolado. Cerca de 10,0% dos pacientes tiveram recaída de criptococose após 6 meses de tratamento específico, doze deles eram HIV positivos.

A respeito da evolução clínica, 51 (39,2%) pacientes receberam alta hospitalar e 79 (60,8%) foram a óbito, sendo 72 HIV positivos e sete HIV negativos. Ao analisar a Declaração de Óbito emitida pelo Sistema de Vigilância ao Óbito (SV0), a criptococose esteve relacionada como causa básica ou associada em 62 dos 79 casos, representando 47,7% e as demais causas de óbito, 13,1% (Figura 20). Dos que morreram por ou com criptococose, 56 (48,3%) eram soropositivos e seis (43%) soronegativos.

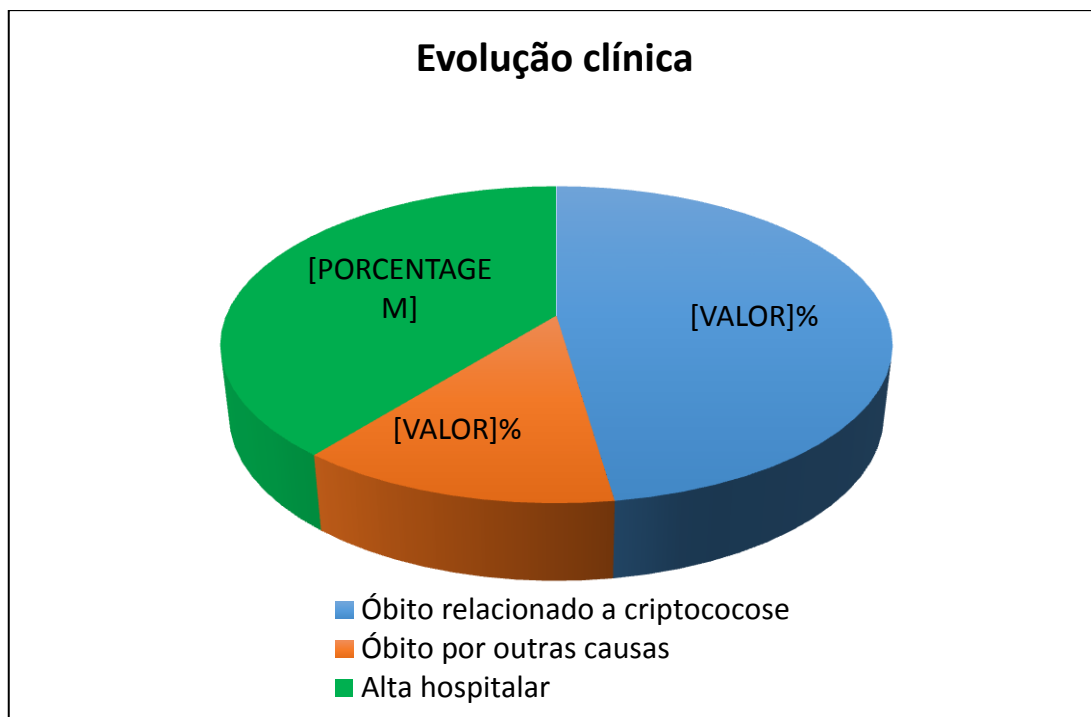


Figura 20. Evolução clínica dos pacientes. Fonte: Prontuários – HDT/HAA.

Dos 51 pacientes que receberam alta, 22 (43,1%) tiveram sequelas em virtude da criptococose, 17 deles eram HIV positivos e cinco HIV negativos. O déficit visual o dano funcional mais frequente (45,4%), seguido de déficit neurológico motor (18,0%) (Figura 21).

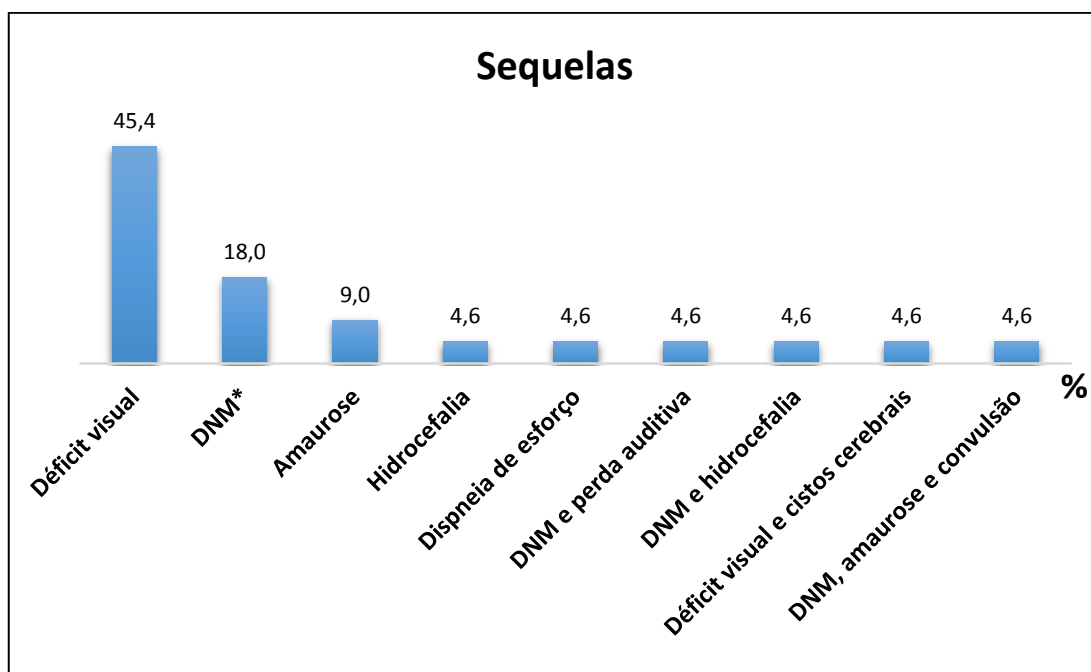


Figura 21. Sequelas em pacientes que receberam alta hospitalar após tratamento da criptococose. *DNM - déficit neurológico motor. Fonte: Prontuários – HDT/HAA.

A presente casuística incluiu 130 casos de criptococose diagnosticados no hospital de referência para o agravo em Goiás, o Hospital de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad (HDT/HAA), entre maio de 2011 a maio de 2014.

Os resultados obtidos mostraram que a maioria dos casos de criptococose ocorreram em pacientes HIV positivos (89,2%) corroborando com estudos que afirmam ser este o principal grupo de acometidos globalmente, sendo portanto a presença do vírus, o principal fator de risco para desenvolvimento da doença (MARUKUTIRA et al., 2014; MITCHELL; PERFECT, 1995; PAPPALARDO; MELHEM, 2003; PAPPAS, 2013). Uma pesquisa realizada no mesmo hospital entre 2009 e 2010 com 62 pacientes, também obteve resultados similares, onde 85,5% eram portadores do HIV (SOUZA et al., 2013).

O predomínio da criptococose no gênero masculino, tanto entre os HIV positivos (81,9%) quanto nos HIV negativos (78,6%) encontrado nesse estudo é similar ao encontrado em outros levantamentos epidemiológicos (LIAO et al., 2012; MEYER et al., 2003). Em duas grandes áreas metropolitanas dos EUA, Atlanta e Houston, a ocorrência de criptococose em indivíduos do sexo masculino foi de 87% nos infectados pelo HIV e entre os não infectados de 56% (MIRZA et al., 2003). Estudos anteriores em Goiás, encontraram resultados semelhantes, com o sexo masculino predominando entre os HIV positivos e negativos, com respectivamente, 73,6% e 66,7% (SOUZA et al., 2013). A razão da maior predominância em homens não é totalmente compreendida, mas postula-se que influências hormonais e o fato do HIV ser ainda mais incidente em homens sejam fatores contribuintes para tal (LEAL et al., 2008; LORTHOLARY et al., 2002; SOUZA et al., 2013).

A maioria dos pacientes HIV positivos (42,2%) tinha entre 31 a 40 anos, sendo esses achados similares ao relatado por outros pesquisadores. No Rio Grande do Sul, Leal et al. (2008) encontraram predomínio de 46,24% da doença na faixa etária de 30 a 39 anos. Nas regiões da Áustria,

Alemanha e Suíça, resultados semelhantes foram encontrados, com maior número de casos em homens entre 31 a 40 anos (TINTELNOT et al, 2004). Lindenberg et al. (2008) pontuam que o predomínio da criptococose entre a terceira e quarta década de vida, coincide com a faixa etária que o HIV mais ocorre. Em relação aos HIV negativos, o predomínio foi na faixa etária acima dos 50 anos, com média de 49,64 anos de idade. Dados próximos foram observados na França, num estudo realizado com 335 pacientes não infectados pelo HIV, onde a faixa etária mais incidente da criptococose foi acima de 46 anos, com média de 52 anos (DROMER et al., 2004). Na Tailândia em 2004, a média de idade para esse grupo foi de 49 anos (KIERTIBURANAKUL et al., 2006).

A respeito da procedência, onde só foram aceitos os dados de pacientes residentes em cidades goianas, os resultados encontrados demonstraram uma maior frequência de casos de pacientes que habitavam em Goiânia (30,8%) e os demais distribuídos em outras 59 cidades do estado. As prováveis explicações para a capital concentrar o maior número de casos refere-se ao fato de ter a maior base populacional, da facilidade de acesso ao hospital de referência, localizado na própria capital e por ter as maiores taxas de incidência de aids do estado (GOIÁS, 2014). Quanto a naturalidade, a maioria dos pacientes (81,5%) nasceu em Goiás, sugerindo que esses casos sejam autóctones. A respeito da zona de procedência, 93,8% dos pacientes residiam em áreas urbanas. Não há outros estudos em Goiás com esse perfil de análise epidemiológica, de sorte que os dados encontrados não podem ser comparados com outros achados locais.

Ao pesquisar outros fatores de risco para a criptococose encontrou-se pacientes com diabetes, neoplasias e principalmente sob uso crônico de imunossupressor.

Casos de diabetes (2; 1,7%) e neoplasias (4; 3,4%) ocorreram em pacientes portadores do principal fator de risco para a doença, a infecção pelo HIV. Os pacientes com diabetes estavam sob uso de TARV, sendo já reportado na literatura a associação entre anormalidades na homeostase da glicose e a utilização de terapia antirretroviral (BROWN et al., 2005; WALLI; GOEBEL; DEMANT, 1998).

Devido a coexistência da imunodeficiência, com depleção da células T CD4 e ativação crônica do sistema imune inato e adaptativo, pacientes HIV positivos tem alto risco de apresentar câncer, principalmente o sarcoma de Kaposi e o carcinoma invasivo de colo uterino, ambos relacionados nesse estudo e classificados como definidores de aids (MALDONADO et al., 2015; PINTO NETO et al., 2012).

O uso crônico de medicamentos imunossupressores que ocorreu em 64,3% dos pacientes HIV negativos, foi estatisticamente significativa como fator predisponente para o desenvolvimento da criptococose. Em estudo realizado na Tailândia, 65% dos HIV negativos com criptococose apresentavam condições predisponentes, sendo 45% deles em uso de drogas imunossupressoras (KIERTIBURANAKUL et al., 2006). Já nos EUA, numa pesquisa com participação de 15 centros médicos, 79% dos pacientes com criptococose não infectados pelo HIV tinham doenças de base ou condições facilitadoras e 28% deles estavam em uso de corticoides (PAPPAS et al., 2001).

Em relação ao tempo de sintomas, a maioria dos pacientes (30%) apresentou sintomatologia por até sete dias (com mínimo de três dias) anteriores ao atendimento no hospital para diagnóstico da doença, demonstrando uma evolução aguda da doença. Esses achados são similares ao encontrado em um centro de referência no Piauí, com 25% casos para essa faixa (VIEIRA JUNIOR; 2015) e muito próximos ao verificado na Bahia, num estudo de 104 casos, onde 27% deles apresentavam tempo de sintomas de até 10 dias (DARZÉ et al., 2000).

Os principais sintomas dos pacientes com criptococose foram cefaleia e febre, tanto nos HIV positivos como nos HIV negativos. Estes achados corroboram com o reportado em outros levantamentos (DARZÉ et al., 2000; PAPPAS et al., 2001; SHIH et al., 2000; SOUZA et al., 2013). Entretanto, entre os HIV negativos, houve igual proporcionalidade de casos com febre e confusão mental (71,4%). As elevadas frequências de confusão mental e de mais dois sintomas neurológicos, rigidez de nuca (42,9%) e convulsão (28,6%) nos HIV negativos mostrou ser estatisticamente significativa quando comparadas aos HIV positivos. Postula-se que sintomas neurológicos sejam mais frequentes em HIV negativos pelo fato de apresentarem reações

inflamatórias mais exacerbadas (NGUYEN et al., 2010). Segundo Antinori et al. (2013), a confusão mental é mais frequente entre HIV negativos, estando presente em cerca de 50% desses e em 18 a 28% dos pacientes com aids. Em estudo realizado nos EUA, 42% dos pacientes HIV negativos com neurocriptococose apresentaram confusão mental e 25% deles, rigidez de nuca (PAPPAS et al., 2001). Quanto a convulsão, algumas poucas publicações relatam incidência de 7,6 a 28,6% em HIV negativos, sendo este último percentual, semelhante ao por nós encontrado (HUNG et al., 2014). A confusão mental e a convulsão são preditores de neurocriptococose (ANTINORI et al. 2013; HUNG et al., 2014), o que coincide com os resultados desta pesquisa, pois a maioria dos casos de criptococose em HIV negativos ocorreram sob a forma de meningoencefalite associada ou não a criptococcemia.

Nos HIV positivos, a análise estatística mostrou significância para os sintomas gerais ou constitucionais de emagrecimento (50%) e diarreia (26,7%) quando comparados com o grupo de pacientes HIV negativos. Achados semelhantes foram encontrados na Tailândia onde, 40% de 106 pacientes com meningite criptocócica e aids apresentaram perda de peso (PITISUTTITHUM et al., 2001). Num estudo com 123 casos no Mato Grosso do Sul foi relatado emagrecimento em 65,7% do pacientes HIV positivos e em 36,8% dos HIV negativos e, segundo esses autores, isso estava possivelmente relacionado à natureza consumptiva da aids (LINDENBERG et al., 2008). Publicações relacionando sintomas de diarreia com criptococose, segundo a infecção pelo HIV são escassas. Em 1996, na África do Sul, comparando o perfil clínico de pacientes com criptococose infectados e não infectados pelo HIV, a diarreia foi citada em 7% dos portadores do vírus (MOOSA; COOVADIA, 1997), nesta casuística, 27,6% desse grupo apresentaram a sintomatologia.

Quanto à forma clínica, a meningoencefalite associada ou não a criptococcemia foi mais prevalente entre HIV positivos (53,4% somente meningoencefalite e 20,7% associada a criptococcemia) e HIV negativos (64,3% somente meningoencefalite e 21,4% associada a criptococcemia). Estes dados são semelhantes aos reportados em literatura, confirmando o tropismo do agente pelo SNC (BIVANCO; MACHADO; MARTINS, 2006;

CONSENSO, 2008; LINDENBERG et al., 2008; MITCHELL; PERFECT, 1995). A criptococcemia é normalmente vinculada a um pior prognóstico em pacientes com neurocriptococose (PASQUALOTO et al., 2004) e sua ocorrência sem foco aparente foi observada em 25 (19,2%) pacientes neste estudo. Frequentemente, o encontro dos agentes de criptococose no sangue precede a invasão do SNC, podendo persistir por um período de uma a 16 semanas (OSUNA et al., 2008). A maioria dos pacientes com criptococcemia nesta casuística eram HIV positivos (24; 20,7%) e somente um (7,1%) HIV negativo. Num estudo em Porto Alegre, realizado com 28 pacientes com criptococcemia relatou-se que 89,3% desses pacientes tinham aids (PASQUALOTTO et al., 2004). Na Argentina, num estudo multicêntrico, 81,2% das fungemias por *Cryptococcus* ocorreram em pacientes HIV positivos (CÓRDOBA et al., 2011).

Dentre os casos de criptococose extrapulmonar em HIV positivos, a micose foi considerada como doença definidora de aids na maioria dos pacientes (59,3%). Esses dados são próximos ao encontrado por Mora et al. em Uberaba, Minas Gerais, no ano de 2012 (64,9%) e por Jongwutiwes et al. na Tailândia, entre os anos de 1996 a 2005 (51,7%) (JONGWUTIWES; SUNGKANUPARPH; KIERTIBURANAKUL; 2008; MORA et al., 2012). A criptococose como doença definidora de aids reflete um avançado estágio de imunodeficiência por parte desses pacientes (BRAZIL, 2017).

Coinfecções de criptococos com outros microrganismos, além do próprio HIV, foram encontradas neste estudo e tem sido reportada também por outros autores (ARONIS; SANTOS; GOLDANI, 2011; PYRGOS et al., 2013; SOUZA et al., 2013). Cerca de 62,1% dos pacientes HIV positivos com criptococose apresentavam relatos de coinfecções e a candidíase oral/esofágica (28,4%) foi a mais frequente. Essa micose representa um dos primeiros sinais clínicos de infecção pelo HIV ocorrendo em algum momento da progressão da aids, em cerca de 50 a 95% dos HIV positivos (FIDEL, 2011).

Dado interessante é a presença de coinfecção de hanseníase nos pacientes HIV negativos. Publicações descrevendo essas associações em não infectados pelo HIV são raras. Pesquisa prévia no mesmo hospital entre 2009 e 2010, encontrou 4 casos (SOUZA et al., 2013). Um recente estudo foi

reportado em Uberlândia, sendo o paciente também portador de artrite reumática (AGUIAR et al., 2017). Azulay et al. (2001) relataram um caso de hanseníase e criptococose e sugeriram que a micose ocorreu devido uso de elevadas doses de corticoides para tratar reações dessa doença. Em nossa casuística, cinco (35,7%) pacientes HIV negativos com hanseníase que tiveram criptococose estavam sob uso prolongado de corticoides e dois deles usavam associadamente a talidomida. No Rio de Janeiro, o uso associado de corticoide e talidomida também foi reportado em um caso de paciente HIV negativo coinfectado com hanseníase e criptococose (LUCA et al., 2013).

Em relação aos exames laboratoriais, o micológico direto do líquido cefalorraquidiano mostrou-se positivo em 95,5% dos pacientes com cultura positiva para *Cryptococcus*. Alguns autores reportam sensibilidade de 94,1% para este método (COLOMBO et al., 2014). Em estudo realizado no Mato Grosso do Sul encontrou-se 93,4% de positividade nas preparações diretas de pacientes HIV positivos e negativos (LINDENBERG et al., 2008).

Os principais espécimes clínicos coletados para realização de culturas, com posterior isolamento e identificação do agente foram líquido cefalorraquidiano (62,4%) e sangue (33,1%), esse padrão também foi evidenciado por outros autores (AGUIAR et al., 2017; DROMER et al., 2004; VIVIANI et al., 2006). O líquido cefalorraquidiano como principal espécime clínico é justificado pela manifestação clínica mais reportada, a meningoencefalite.

C. neoformans foi a espécie mais isolada ocorrendo em 93,8% do total de casos. Segundo a infecção pelo HIV, a espécie prevaleceu tanto entre soropositivos (96,6%), como soronegativos (71,4%) mostrando a análise estatística, significância para o encontro de *C. neoformans* em HIV positivos com criptococose. Mundialmente, a maioria dos casos de criptococose ocorre por *C. neoformans*, especialmente nos imunossuprimidos pelo HIV. Pesquisa locais anteriores encontraram resultados de alta prevalência de *C. neoformans*, inclusive nos HIV negativos, semelhantes ao encontrado neste estudo (FERNANDES et al., 2000; SOUZA et al., 2013).

A criptococose por *C. gattii* foi observada em oito (6,2%) pacientes, quatro HIV negativos (28,6%) e quatro HIV positivos (3,4%). Casos de

criptococose por *C. gattii* manifesta-se de forma endêmica em determinadas regiões e principalmente em imunocompetentes (COGLIATI, 2013; LITVINTSEVA et al., 2005; MITCHELL; PERFECT, 1995; VIVIANI et al., 2006). No Brasil, essa espécie é endêmica nas regiões Norte e Nordeste e tem emergido como patógeno primário, infectando particularmente crianças, adolescentes e adultos jovens (FAVALESSA et al., 2014).

A utilização de TARV de forma regular pelos HIV positivos, segundo a data do diagnóstico da criptococose foi de 12,1%. Os pacientes sem relato de uso nos prontuários representaram 58,6% dos casos. Ao verificar a data do diagnóstico do HIV nesses pacientes sem relato de uso de TARV observou-se que em 4,4% o diagnóstico laboratorial da criptococose antecedeu o do HIV, em 29,4% HIV e criptococose foram diagnosticados no mesmo momento e em 14,7% o diagnóstico do HIV antecedeu de um a sete dias o da criptococose. Esses achados podem indicar um diagnóstico tardio do HIV. Num estudo de coorte com 5.152 pacientes HIV positivos procedentes de sete países da América Latina e Caribe foi relatado que 76% dos pacientes apresentaram diagnóstico tardio do HIV. Essa prevalência é quase duas vezes mais que o encontrado na Europa, com cerca de 15 a 38% (VIDAL et al., 2013). Em Belo Horizonte, uma pesquisa avaliou o início da TARV entre indivíduos portadores de HIV/aids com estágio avançado de imunodeficiência e encontrou que 68,4% deles haviam iniciado tardiamente a terapia antirretroviral (FERNANDES et al., 2009). Segundo as diretrizes clínicas do HIV/aids, no estágio avançado de imunodeficiência estão enquadrados os pacientes HIV positivos sintomáticos que apresentam doenças definidoras de aids, entre elas a criptococose extrapulmonar (BRASIL, 2017; CDC, 1992).

Em 103 pacientes HIV positivos foi realizada as contagens de linfócitos T CD4, com média de 58,66 células/mm³ e a carga viral, com média de 282.403,83 cópias/ml. Esses dois parâmetros laboratoriais permitem estimar o prognóstico da aids e os resultados obtidos evidenciaram a doença em estágio avançado e com importante imunodepressão dos pacientes, uma vez que 81,6% deles apresentaram CD4 abaixo de 100 células/mm³. Estudos locais neste mesmo hospital encontrou valores muito próximos ao relatado neste estudo (SOUZA et al., 2013). Pesquisadores na África do Sul

observaram aumento do risco de meningoencefalite quando os pacientes tinham CD4 abaixo de 100 células/mm³ (JARVIS et al, 2010).

O uso de antifúngicos na fase de indução foi relatado em 91,5% dos pacientes, sendo a monoterapia por AmB-D (50,8%) mais frequente seguido de sua associação com FZ (31,5%) e em acordo com as diretrizes de tratamento da doença (CONSENSO, 2008; PERFECT et al. 2010; WHO, 2011). Não havia relato de uso em 11 (8,5%) pacientes. Dois deles evadiram no segundo dia de internação, possivelmente antes da tomada de decisão sobre a conduta terapêutica para a criptococose e daí a ausência de dados nos prontuários. Nove evoluíram para o óbito em menos de uma semana após a internação e desses, sete tiveram criptococcemia, com diagnóstico somente após crescimento e isolamento na cultura.

Houve 13 (10,0%) casos de recaída da criptococose, 12 (10,3%) entre HIV positivos e um (7,1%) caso em HIV negativo. Na França foram encontrados 8,2% de recaídas entre HIV positivos e 0,9% entre HIV negativos (DROMER et al., 2004). Entre 2009 e 2010, no mesmo hospital deste estudo relatou-se 14,5% de casos de recaída (SOUZA et al, 2013).

A análise dos dados relacionados a evolução clínica mostraram que 60,8% dos pacientes foram a óbito, 47,7% tendo a criptococose como causa básica ou associada e 13,1% devido a outras causas. Investigações nacionais sobre mortalidade relacionada à criptococose com ou sem doença subjacente, demonstram de 45-65% de óbitos na população estudada (AGUIAR et al., 2017; DARZÉ et al., 2000; PAPPALARDO; MELHEM et al., 2003; SOUZA et al., 2013).

Algumas variáveis levantadas neste estudo podem estar associadas ao elevado número de óbitos entre os pacientes com criptococose de Goiás: predomínio de casos com forma clínica grave, a meningoencefalite (54,6%), tanto entre HIV positivos como negativos, baixa contagem de células CD4 (média de 58,66 cópias/mm³), diagnóstico tardio do HIV (4,4% dos pacientes diagnosticados com criptococose antes do HIV, 29,4% concomitante e 19,1% até 14 dias após o diagnóstico do HIV), maioria dos pacientes sob uso irregular ou não uso de TARV (87,9%) e entre HIV negativos, uso crônico de medicamentos imunossupressores, uma vez que

dos sete pacientes que foram a óbito nesse grupo, seis estavam sob uso desses medicamentos (85,7%).

A criptococose, além da alta letalidade, pode causar importantes sequelas aos que sobrevivem (DARZÉ et al., 2000). Neste levantamento, 43,1% dos pacientes que receberam alta tiveram danos funcionais relacionados à criptococose, sendo o déficit visual mais frequente. Segundo pesquisadores, a diminuição da acuidade visual ou até mesmo a cegueira constitui uma importante e frequente causa de incapacidade nestes pacientes. (LASSO et. al, 2017; MUSLIKHAN et al., 2010; TRILLES et al., 2008).

7 CONCLUSÕES

- Este trabalho identificou 130 pacientes com criptococose, atendidos em hospital de referência para agravo no estado de Goiás, durante o período de maio de 2011 a maio de 2014. Destes, 116 eram HIV positivos e 14 HIV negativos.
- O sexo masculino foi preponderante nos dois grupos.
- Entre os HIV positivos a faixa etária encontrada foi mais jovem (31 a 40 anos) do que os HIV negativos (acima de 50 anos) .
- A maioria dos pacientes eram de áreas urbanas, naturais de Goiás e residentes em Goiânia-GO.
- Infecção pelo HIV foi o principal fator de risco para a criptococose e em seguida o uso prolongado de medicamentos imunossupressores.
- Todos pacientes em uso crônico de imunossupressores eram HIV negativos ($p<0,001$).
- A principal doença de base dos HIV negativos sob uso crônico de imunossupressores era a hanseníase.
- Os principais sintomas foram cefaleia e febre no total de pacientes. Emagrecimento e diarreia ocorreu mais HIV positivos ($p=0,02$) enquanto, confusão mental ($p=0,002$), convulsão ($p=0,02$) e rigidez de nuca ($p=0,05$) nos HIV negativos.
- Meningoencefalite foi forma clínica predominante nos dois grupos de pacientes.
- *C. neoformans* foi a espécie mais isolada nos cultivos, sendo estatisticamente significante esse achado em HIV positivos ($p<0,001$).

- Na maior parte dos pacientes HIV positivos, o uso de TARV foi irregular, o diagnóstico da aids foi tardio e a criptococose foi considerada doença definidora de aids.
- A média da contagem de células T CD4 nos HIV positivos foi de 58,66 células/mm³.
- A maioria dos pacientes fizeram uso de AmB-D durante a fase de indução e houve recaída da infecção em cerca de 10% dos casos.
- A análise dos dados relacionados à evolução da doença mostra que 47,7% dos pacientes foram a óbito tendo a criptococose como causa básica ou associada, segundo Declaração de Óbito emitida pelo SVO.
- Dos pacientes que sobreviveram, 43,1% tiveram sequelas atribuídas a criptococose, sendo o déficit visual o dano funcional mais frequente.
- Os resultados obtidos nesta casuística demonstram a importância de um sistema de vigilância da criptococose em Goiás e acredita-se que possam servir como base de dados para documentar o perfil clínico-epidemiológico dos pacientes com criptococose nesse estado e contribuir com estudos de ecoepidemiologia nacional da doença.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F.; WOLF, J. M.; CASADEVALL, A. Virulence-associated enzymes of *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryotic Cell**, v. 14, n. 12, p. 1173-1185, Dec. 2015.

ANTINORI, S. New insights into HIV/AIDS-associated cryptococcosis. **International Scholarly Research Notices AIDS**, v. 2013, p. 1-22, 2013. ID 471363.

AGUIAR, P. A. D. F. et al. The epidemiology of cryptococcosis and the characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated in a Brazilian university hospital. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 59, p.1-9, 2017.

ARAUJO, G. S. et al. Capsules from pathogenic and non-pathogenic *Cryptococcus* spp. manifest significant differences in structure and ability to protect against phagocytic cells. **PLOS ONE**, v. 7, p. 1-11, Jan. 2012.

ARONIS, M. L. et al. Disseminated *Histoplasma capsulatum* and *Cryptococcus neoformans* co-infection in patients with AIDS. **Mycopathologia**, v. 172, p. 233-236, 2011.

AULAKH, H. S.; STRAUSS, S. E.; KWON-CHUNG, K. J. Genetic relatedness of *Filobasidiella neoformans* (*Cryptococcus neoformans*) and *Filobasidiella bacillispora* (*Cryptococcus bacillisporus*) as determined by deoxyribonucleic acid base composition and sequence homology studies. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.31, n. 1, p. 97-103, Jan. 1981.

ALSPAUGH, J. A. Virulence mechanisms and *Cryptococcus neoformans* pathogenesis. **Fungal Genetic Biology**, v.78, p. 55-58, May 2015.

AZULAY, R.V., et al. Cutaneous cryptococcosis associated with lepromatous leprosy. **International Journal of Dermatology**, v. 40, p.412-414, 2001.

BARNETT, J. A. A history of research on yeasts 14: medical yeasts part 2, *Cryptococcus neoformans*. **Yeast**, v. 27, p. 875-904, June 2010.

BARONI, F.A. et al. *Cryptococcus neoformans* strains isolated from church towers in Rio de Janeiro city, RJ, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 2, p.71-75, Mar-Apr. 2006.

BICANIC, T.; HARRISON, T. S. Cryptococcal meningitis. **British Medical Bulletin**, v. 72, n. 1, p. 99-118, Apr. 2004.

BIVANCO, F. C.; MACHADO, C. A. S.; MARTINS, E. L. Criptococose cutânea. **Arquivos Médicos do ABC**, v. 31, p.102-109, 2006.

BOEKHOUT, T. et al. Hybrid genotypes in the pathogenic yeast *Cryptococcus neoformans*. **Microbiology**, v.147, p. 891-907, 2001.

BOVERS, M. et al. Unique hybrids between the fungal pathogens *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. **Federation of European Microbiological Societies Yeast Research**, v. 6, p. 599-607, 2006.

BOVERS, M.; HAGEN, F.; BOEKHOUT, T. Diversity of the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 25, p. S4-S12, 2008.

BUCHANAN, K. L.; MURPHY, J. What makes *Cryptococcus neoformans* a pathogen? **Emerging Infectious Diseases**, v. 4, n. 1, p. 71-83, Jan-Mar. 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Meningite por outras etiologias. In: _____. **Guia de Vigilância em Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. cap. 1, p. 65-68. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/bvs>>

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Quando iniciar o tratamento antirretroviral. In: _____. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos**, 2017. cap.8, p. 81-82. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br>>

BROOKS, G. F. et al. Cryptococcosis. In: _____. **Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology**. 26th ed. EUA: McGraw-Hill, 2013. ch. 45, p. 697-699.

BROWN, T. et al. Antiretroviral therapy and the prevalence and incidence of Diabetes Mellitus in the multicenter AIDS cohort study. **Archives of Internal Medicine**, v. 165, p. 1179-1184, May 2005.

BRUMMER, E. Human defenses against *Cryptococcus neoformans*: an update. **Mycopathologia**, v.143, p.121-125, 1999.

CASADEVALL, A.; EISENMAN, H. C. Synthesis and assembly of fungal melanin. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 93, n. 03, p. 931-940, Feb. 2012.

CASADEVALL, A.; PERFECT, J. R. Ecology of *Cryptococcus neoformans*. In: _____. ***Cryptococcus neoformans***. Washington: ASM Press, 1998, p. 41-71.

CASADEVALL, A.; STEENBERGEN, J. N.; NOSANCHUK, J. D. 'Ready made' virulence and 'dual use' virulence factors in pathogenic environmental

fungi- the *Cryptococcus neoformans* paradigm. **Current Opinion in Microbiology**, v. 6, p. 332-337, 2003.

CASALI, A. K. et al. *Cryptococcus neoformans* – aspectos moleculares e epidemiológicos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n. 20, p. 34-37, maio-jun. 2001.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL (CDC). Revised classifications system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. **MMWR**, v. 41, p.1-13, 1992.

CHEN, L.; BLANK, E. S.; CASADEVALL, A. Extracellular proteinase activity of *Cryptococcus neoformans*. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 3, n. 5, p. 570-574, Sept. 1996.

CHEN, S. C. A.; MEYER, W.; SORRELL, T. C. *Cryptococcus gattii* infections. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, p. 980-1024, Oct. 2014.

COGLIATI, M. Global Molecular Epidemiology of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. **Scientifica**, v. 2013, p. 1-24, 2013.

COLOMBO, A. C.; RODRIGUES, M. L. Fungal colonization of the brain: anatomopathological aspects of neurological cryptococcosis. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, supl. 2, p. 1293-1309, 2015.

COLOMBO, F. A. Updating: Cryptococcosis diagnostic aspects. **Journal of AIDS & Clinical Research**, n. 12, v. 5, p. 1-7, 2014.

CONSENSO em Criptococose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 5, p. 524-544, set-out. 2008.

CÓRDOBA, S. et al. Species distribution and susceptibility profile of yeasts isolated from blood cultures: results of a multicenter active laboratory-based surveillance study in Argentina. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 43, n. 3, Jul-Sep. 2011.

CORRÊA, M. P. S. C. et al. Criptococose em crianças no estado do Pará, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 5, p. 505-508, set-out. 1999.

CORRÊA, M. P. S. C. et al. The spectrum of computerized tomography (CT) findings in central nervous system (CNS) infection due to *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in immunocompetent children. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 5, p. 283-287, Sept-Oct. 2002.

COX, G. M. et al. Urease as a virulence factor in experimental cryptococcosis. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 2, p. 443-448, Feb. 2000.

DARZÉ, C. et al. Características clínicas laboratoriais de 104 casos de meningoencefalite criptocócica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 1, p. 21-28, jan-fev 2000.

DROMER, F. et al. Epidemiology of HIV-associated cryptococcosis in France (1985–2001): comparison of the pre- and post-HAART eras. **AIDS**, v. 18, n. 3, p. 555–562, 2004.

EISENMAN, H. C.; CASADEVALL, A. Synthesis and assembly of fungal melanina. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 93, n. 3, p. 931-940, Feb. 2012.

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

FARIA, R. O. et al. Occurrence of *Cryptococcus neoformans* in pigeon excrement in the city of Pelotas, State of Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 3, n. 2, p.198-20, Mar-Apr. 2010.

FAVALESSA, O. C. et al. Molecular typing and *in vitro* antifungal susceptibility of *Cryptococcus* spp from patients in Midwest Brazil. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 8, n. 8, p. 1037-1043, 2014.

FERNANDES, J. R. M. et al. Início da terapia antirretroviral em estágio avançado de imunodeficiência entre indivíduos portadores de HIV/AIDS em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 25, n. 6, p. 1369-1380, jun. 2009.

FERNANDES, O. F. L. et al. *Cryptococcus neoformans* isolados de pacientes com AIDS. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 1, p. 75-78, jan-fev. 2000.

FIDEL, P.L. Jr. *Candida*-host interactions in HIV disease: implications for oropharyngeal candidiasis. **Advances in Dental Research**, v. 23, n. 1, p. 45-49, 2011.

FILION, T.; KIDD, S.; AGUIRRE, K. Isolation of *Cryptococcus laurentii* from Canada goose guano in rural upstate New York. **Mycopathologia**, v. 162, p. 363-368, 2006.

FRANZOT, S. P. et al. 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**, v. 35, n. 9, p. 2243–2251, Sept. 1997.

FRANZOT, S. P., SALKIN I. F., CASADEVALL, A. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*: separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype A isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 3, p. 838-840, Mar. 1999.

FRASER, J. A. et al. Same-sex mating and the origin of the Vancouver Island *Cryptococcus gattii* outbreak. **Nature**, v. 437, n. 7063, p. 1360-1364, Oct. 2005.

GOIÁS. Secretaria de Estado da Saúde de Goiás. Superintendência de Políticas de Atenção Integral à Saúde. **Boletim Epidemiológico HIV/AIDS do Estado de Goiás**. Goiás: Secretaria de Estado da Saúde de Goiás, 2014. p. 1-40. Disponível em: <<http://www.saude.go.gov.br>>

GALANIS, E.; MACDOUGALL, L. Epidemiology of *Cryptococcus gattii*, British Columbia, Canada, 1999–2007. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 2, p. 251-257, Feb. 2010.

GATTII, F.; EECKELS, R. An atypical strain of *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuillemin 1894, I. description of the disease and of the strain. **Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale**, v. 50, p. 689–694, 1970.

GHANNOUM, M. A. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.13, n. 1, p. 122-143, Jan. 2000.

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

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

HALLIDAY, C. L.; CARTER, D. A. Clonal reproduction and limited dispersal in an environmental population of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* isolates from Australia. **Journal Of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 703–711, Feb. 2003.

HAMANN, I. D.; GILLESPIE, R. J.; FERGUSON, J. K. Primary cryptococcal cellulitis caused by *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in an immunocompetent host. **Australasian Journal of Dermatology**, v. 38, p. 29-52, 1997.

HARRIS, J. R. et al. *Cryptococcus gattii* in the United States: clinical aspects of infection with an emerging pathogen. **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, n. 12, p. 1188-1195, Dec. 2011.

HEITMAN, J. et al. ***Cryptococcus* from human pathogen to model yeast**. 2. ed. Washington: ASM Press, 2011. 620p.

HULL, C. M.; HEITMAN, J. Genetics of *Cryptococcus neoformans*. **Annual Review of Genetics**, v. 36, p. 557-615, 2002.

HUNG, C-W. et al. Predictors and long-term outcome of seizures in human immuno-deficiency virus (HIV)-negative cryptococcal meningitis. **BMC Neurology**, v. 14, n. 208, p. 1-8, 2014.

IDNURM, A. et al. Deciphering the model pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 3, p. 753-764, Oct. 2005.

ILLNAIT-ZARAGOZI, M.T. et al. Microsatellite typing of clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* isolates from Cuba shows multiple genetic lineages. **PLOS ONE**, v. 5, n. 2, p. 1-7, 2010.

JARVIS, J. N. et al. Adult meningitis in a setting of high HIV and TB prevalence: findings from 4961 suspected cases. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, n. 67, p. 1-6, 2010.

JONGWUTIWES, U.; SUNGKANUPARPH, S.; KIERTIBURANAKUL, S. Comparison of clinical features and survival between cryptococcosis in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative patients. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v. 61, n. 2, p. 111-115, Mar. 2008.

KAVANAUGH, L. A.; FRASER, J. A.; DIETRICH, F. S. Recent evolution of the human pathogen *Cryptococcus neoformans* by intervarietal transfer of a 14-gene fragment. **Molecular Biology and Evolution**, v. 23, n. 10, p.1879–1890, 2006.

KHAWCHAROENPORN, T.; APISARNTHANARAK, A.; MUNDY, L. M. Non-*neoformans* cryptococcal infections: a systematic review. **Infection**, v. 35, p. 51–58, Apr. 2007.

KIDD, S. E. et al. Characterization of environmental sources of the human and animal pathogen *Cryptococcus gattii* in British Columbia, Canada, and the Pacific Northwest of the United States. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 5, p.1433-1443, Mar. 2007.

KIERTIBURANAKUL, S. et al. Cryptococcosis in human immunodeficiency virus-negative patients. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 10, p. 72-78, 2006.

KOZUBOWSKI, L.; HEITMAN, J. Profiling a killer, the development of *Cryptococcus neoformans*. **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews**, v. 36, n. 1, p. 78-94, Jan. 2012.

KOZEL, T. R. Virulence factors of *Cryptococcus neoformans*. **Trends in Microbiology**, v. 3, n. 8, p. 295-298, Aug. 1995.

KRONSTAD, J. W et al. Expanding fungal pathogenesis: *Cryptococcus* species break out of the opportunistic box. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 3, p. 193-203, Mar. 2011.

KURTZMAN, C. P.; FELL, J. W.; BOEKHOUT, T. *Cryptococcus*. In: _____. **The yeasts: a taxonomic study**. 5 ed. New York: ACM Press, 2011. p. 1661-1662.

KWON-CHUNG, K. J. A new genus, *Filobasidiella*, the perfect state of *Cryptococcus neoformans*. **Mycologia**, v. 67, p. 1197–1200, 1975.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. Distribution of alpha and alpha mating types of *Cryptococcus neoformans* among natural and clinical isolates. **American Journal of Epidemiology**, v.108, n. 4, p. 337-341, Oct. 1978.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E.; RHODES, J. C. Taxonomic studies on *Filobasidiella* species and their anamorphs. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 48, p. 25-38, 1982.

KWON-CHUNG, K. J.; POLACHEK, I.; BENNETT, J. E. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). **Journal of Clinical Microbiology**, v. 15, n. 3, p. 535-537, Mar. 1982.

KWON-CHUNG, K. J.; EDMAN, J. C.; WICKES, B. L. Genetic association of mating types and virulence in *Cryptococcus neoformans*. **Infection and Immunity**, v. 60, n. 2, p. 602-605, Feb. 1992.

KWON-CHUNG, K. J. et al. Proposal to conserve the name *Cryptococcus gattii* against *C. hondurians* and *C. bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenomycetes, Tremellomycetidae). **Taxon**, v. 51, p. 804-806, Nov. 2002.

KWON-CHUNG, K. J.; VARMA, A. Do major species concepts support one, two or more species within *Cryptococcus neoformans*? **Federation of European Microbiological Societies Yeast Research**, v. 6, p. 574-587, May 2006.

KWON-CHUNG, K. J. et al. The case for adopting the “species complex” nomenclature for the etiologic agents of cryptococcosis. **MSphere**, v. 2, n. 1, p. 1-7, Jan-Feb. 2017.

LACAZ, C. S.; PORTO, E.; MARTINS, J. E. *Criptococose*. In: _____. **Micologia médica – fungos, actinomicetos e algas de interesse médico**. 8. ed. São Paulo: Sarvier, 1991. cap. 15, p.307-317.

LACAZ, C. S. et al. *Criptococose*. In: _____. **Tratado de micologia médica**. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. cap. 17, p. 416-435.

LASSO, F. A. et al. Cryptococcal cerebellitis in no-VIH patient. **Colombia Médica**, v. 48, n. 2, p. 94-97, 2017.

LAZÉRA, M. S. et al. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in a pottery tree hollow - evidence for a natural habitat related to decaying wood. **Medical Mycology**, v. 36, p. 119-122, 1998.

LAZÉRA, M. S.; IGREJA, R. P.; WANKE, B. Criptococose. In: SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, F. G. M. **Micologia médica à luz de autores contemporâneos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap. 24, p. 253-264.

LEAL, A. L. et al. Epidemiological profile of cryptococcal meningitis patients in Rio Grande do Sul, Brazil. **Mycopathologia**, v. 166, p. 71-75, 2008.

LEITE, D. P. Jr. et al. *Cryptococcus* spp isolated from dust microhabitat in Brazilian libraries. **Journal of Occupational Medicine and Toxicology**, v. 7, n.11, p. 1-7, 2012.

LIAO, C. H. et al. Different presentations and outcomes between HIV-infected and HIV-uninfected patients with Cryptococcal meningitis. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 45, n. 4, p. 296-304, 2012.

LI, S. S.; MODY, C. H. *Cryptococcus*. **Proceedings of the American Thoracic Society**, v. 7, p. 186-196, 2010.

LINDBERG, J. et al. *Cryptococcus gattii* - risk for tourists visiting Vancouver Island, Canada. **Emerging Infectious Diseases**, vol. 13, n. 1, Jan. 2007.

LINDENBERG, A. S. C. et al. Clinical and epidemiological features of 123 cases of cryptococcosis in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 50, n. 2, p. 75-78, Mar-Apr. 2008.

LIN, X.; HEITMAN, J. The biology of the *Cryptococcus neoformans* species complex. **Annual Review of Microbiology**, v. 60, p. 69–105, May 2006.

LITVINTSEVA, A. P. et al. Comparative Analysis of Environmental and Clinical Populations of *Cryptococcus neoformans*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 6, p. 556-564, Feb. 2005.

LITVINTSEVA, A. P. et al. Multilocus sequence typing reveals three genetic subpopulations of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* (serotype a), including a unique population in Botswana. **Genetics**, n. 172, p. 2223-2238, Apr. 2006.

LORTHOLARY, O. et al. Influence of gender and age on course of infection and cytokine responses in mice with disseminated *Cryptococcus neoformans* infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 8, n. 1, p. 31-37, Jan. 2002.

LUCA, D. G. et al. Superposition of leprosy and other neglected tropical diseases in the State of Rio de Janeiro: a case series report. **Leprosy Review**, v. 84, p. 302–307, 2013.

MA, H.; MAY, R. C. Virulence in *Cryptococcus* species. In: Allen I. LASKIN, A. I.; SARIASLANI, S.; GADD, G. M. **Advances in Applied Microbiology**, v. 67. Burlington: Academic Press, 2009. ch. 5, p. 131-190.

MALDONADO, G. C. et al. Estudo clínico de sarcoma de Kaposi em pacientes com HIV/AIDS, de 1985-1994 e 2005-2014. **Revista HUPE**, v. 14, p. 36-41, 2015.

MARTINS, L. M. et al. Genotypes of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* as agents of endemic cryptococcosis in Teresina, Piauí (northeastern Brazil). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 6, p. 725-730, Sep. 2011.

MARUKUTIRA, T., et al. Clinical characteristics and outcomes in 303 HIV-infected patients with invasive fungal infections: data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance registry, a multicenter, observational study. **HIV/AIDS – Research and Palliative Care**, v. 6, p. 39-47, Mar. 2014.

MAZIARZ, E. K.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis. **Infectious Disease of North America**, n. 30, p. 179-206, 2016.

MC TAGGART, L. et al. Rapid identification of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*, *C. neoformans* var. *neoformans*, and *C. gattii* by use of rapid biochemical tests, differential media, and DNA sequencing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 7, p. 2522–2527, July 2011.

MEYER, W. et al. Hybridization probes for conventional DNA fingerprinting used as single primers in the polymerase chain reaction to distinguish strains of *Cryptococcus neoformans*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 9, p. 2274-2280, Sept. 1993.

MEYER, W. et al. Molecular typing of Ibero American *Cryptococcus neoformans* isolates. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 2, p. 189-195, Feb. 2003.

MIRZA, S. A. et al. The changing epidemiology of cryptococcosis: an update from population-based active surveillance in 2 large metropolitan areas, 1992–2000. **Clinical Infectious Diseases**, v. 36. P. 789-794, Mar. 2003.

MITCHELL, T. G.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis in the era of AIDS -100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 8, n. 4, p. 515–548, Oct. 1995.

MOOSA, M. Y. S.; COOVADIA, Y. M. Cryptococcal meningitis in Durban, South Africa: a comparison of clinical features, laboratory findings, and outcome for human immunodeficiency virus (HIV)—positive and HIV-negative patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 24, p. 131-134, 1997.

MORA, D. J. et al. Clinical, epidemiological and outcome features of patients with cryptococcosis in Uberaba, Minas Gerais, Brazil. **Mycopathologia**, v. 173, p. 321–327, 2012.

MUSLIKHAN, Y. et al. *Cryptococcus* meningitis in na immunocompetent teenage boy presented early with diplopia. **International Journal of Ophthalmology**, v. 3, n. 1, p. 92-94, 2010.

NASSER, N.; NASSER FILHO, N.; VIEIRA, A. G. Criptococose cutânea primária em paciente imunocompetente. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 86, n. 6, p. 1178-1180, 2011.

NEUVILLE, S. et al. Primary cutaneous cryptococcosis: a distinct clinical entity. **Clinical Infectious Diseases**, v. 36, p. 337-347, Feb. 2003.

NGUYEN, M. H. et al. Outcomes of central nervous system cryptococcosis vary with host immune function: results from a multi-center, prospective study. **Journal of Infection**, v. 61, p. 419-426, 2010.

NIELSEN, K. et al. *Cryptococcus neoformans* α strains preferentially disseminate to the central nervous system during coinfection. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 8, p. 4922-4933, Aug. 2005.

NISHIKAWA, M. M. et al. Serotyping of 467 *Cryptococcus neoformans* isolates from clinical and environmental sources in Brazil: analysis of host and regional patterns. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 73-77, Jan. 2003.

NOSANCHUK, J. D.; CASADEVALL, A. Impact of melanin on microbial virulence and clinical resistance to antimicrobial compounds. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 50, n. 11, p. 3519-3528, Nov. 2006.

ODOM, A. et al. Calcineurin is required for virulence of *Cryptococcus neoformans*. **The EMBO Journal**, v. 16, n. 10, p. 2576-2589, 1997.

OLSZEWSKI, M. A. et al. Urease expression by *Cryptococcus neoformans* promotes microvascular sequestration, thereby enhancing Central Nervous System invasion. **American Journal of Pathology**, v. 164, n. 5, May 2004.

OSUNA, A. et al. Criptococose. **Acta Medica Portuguesa**, v. 21, n. 3, p. 307-313, 2008.

PAPPALARDO, M. C. S. M.; MELHEM, M. S. C. Cryptococcosis: a review of the brazilian experience for the disease. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, n. 6, p. 299-305, Nov-Dec. 2003.

PAPPAS, P. G. Cryptococcal infections in non-hiv-infected patients. **Transactions of the American Clinical and Climatological Association**, v.124, p. 61-78, 2013.

PAPPAS, P. G. et al. Cryptococcosis in human immunodeficiency virus-negative patients in the era of effective azole therapy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, n. 5, p. 690–699, Sept. 2001.

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

PASQUALOTTO, A. C. et al. Cryptococchemia. An analysis of 28 cases with emphasis on the clinical outcome and its etiologic agente. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 21, p. 143-146, 2004.

PASSONI, L. F. C. et al. *Cryptococcus neoformans* isolated from human dwellings in Rio de Janeiro, Brazil: an analysis of the domestic environment of AIDS patients with and without cryptococcosis. **Medical Mycology**, v. 36, p. 305-311, Apr. 1998.

PEDROSO, R. S.; FERREIRA, J. C.; CANDIDO, R. C. The isolation and characterization of virulence factors of *Cryptococcus* spp. from saprophytic sources in the city of Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. **Microbiological Research**, v. 164, p. 221-227, 2009.

PERFECT, J. R. et al. Karyotyping of *Cryptococcus neoformans* as an epidemiological tool. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 31, n. 12, p. 3305-3309, Dec. 1993.

PERFECT, J. R. *Cryptococcus neoformans*: the yeast that likes it hot. **Federation of European Microbiological Societies Yeast Research**, v.6, p.463-468, June 2006.

PERFECT, J. R. et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, n. 3, p. 291-322, Feb. 2010.

PERFECT, J. R.; BICANIC, T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now. **Fungal Genetics and Biology**, v. 78, p. 49-54, May 2015.

PINTO NETO, J. et al. Malignancies in HIV/AIDS patients attending an outpatient clinic in Vitória, State of Espírito Santo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 6, p. 687-690, Nov-Dec. 2012.

PITISUTTITHUM, P. et al. A prospective study of AIDS-associated cryptococcal meningitis in Thailand treated with high-dose amphotericin B. **Journal of Infection**, v. 43, p. 226-233, 2001.

PRADO, M. et al. Mortality due to systemic mycoses as a primary cause of death or in association with AIDS in Brazil: a review from 1996 to 2006. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n.3, p. 513-521, May 2009.

- PYRGOS, V. et al. Epidemiology of cryptococcal meningitis in the US:1997-2009. **PLOS ONE**, v. 8, n. 2, p. 562-569, Feb. 2013.
- RAKESH, V. et al. Finite-element model of interaction between fungal polysaccharide and monoclonal antibody in the capsule of *Cryptococcus neoformans*. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 112, n. 29, p. 8514-8522, July 2008.
- ROY, M.; CHILLER, T. Preventing deaths from cryptococcal meningitis: from bench to bedside. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 9, n. 9, p. 715-717, 2011.
- SAAG, M. S. et al. Practice guidelines for the management of cryptococcal disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 30, p. 710-718, Apr. 2000.
- SANTOS, W. R. A. et al. Primary endemic *Cryptococcosis gattii* by molecular type VGII in the state of Para, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n.8, p. 813-818, Dec. 2008.
- SHIH, C. C. et al. Cryptococcal meningitis in non-HIV-infected patients. **The Quarterly Journal of Medicine**, v. 93, p.245-251, 2000.
- SILVA, P. R. et al. Suscetibilidade a antifúngicos de variedades de *Cryptococcus neoformans* isoladas de pacientes em hospital universitário. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, n. 41, v. 2, p. 158-162, mar-abr. 2008.
- SINGH, A. et al. Factors required for activation of urease as a virulence determinant in *Cryptococcus neoformans*. **MBio**, v.4, p. 1-11, May-June 2013.
- SLOAN, D. J.; PARRIS, V. Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options. **Clinical Epidemiology**, v. 6, p.169-182, May 2014.
- SOLL, D. R. The ins and outs of DNA fingerprinting the infectious fungi. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 2, p. 332-370, Apr. 2000.
- SORREL, T. C.; ELLIS, D. H. Ecology of *Cryptococcus neoformans*. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 14, p. 42-43, 1997.
- SOUZA, L. K. H. et al. Molecular typing and antifungal susceptibility of clinical and environmental *Cryptococcus neoformans* species complex isolates in Goiania, Brazil. **Mycoses**, v. 53, p. 62–67, 2009.
- SOUZA, L. K. H. et al. Clinical and microbiological features of cryptococcal meningitis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 3, p. 343-347, May-Jun. 2013.
- SPRINGER, D.J.; CHATURVEDI, V. Projecting global occurrence of *Cryptococcus gattii*. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n.1, Jan. 2010.

SRIKANTA, D.; SANTIAGO-TIRADO, F. H.; DOERING, T. L. *Cryptococcus neoformans*: historical curiosity to modern pathogen. **Yeast**, v. 31, n. 2, p. 47-60, Feb. 2014.

SWINNE, D. et al. Isolation of *Cryptococcus neoformans* from houses of AIDS-associated cryptococcosis patients in Bujumbura (Burundi). **AIDS**, v. 3, n. 6, p.389-390, 1989.

TELLO, M. et al. Criptococosis. **Revista Médica Risaralda**, v. 19, n. 2, p. 147-153, 2013.

TINTELNOT, K. et al. Follow-up of epidemiological data of cryptococcosis in Austria, Germany and Switzerland with special focus on the characterization of clinical isolates. **Mycoses**, v. 47, p. 455–464, 2004.

TRILLES, L. et al. Genetic characterization of environmental isolates of the *Cryptococcus neoformans* species complex from Brazil. **Medical Mycology**, v. 41, p. 383-390, Oct. 2003.

TRILLES, L. et al. Regional pattern of molecular types of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 5, p. 415-462, Aug. 2008.

TRILLES, L. et al. Identification of the major molecular types of *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* by hyperbranched rolling circle amplification. **PLOS ONE**, v. 9, n. 4, p. 1-8, Apr. 2014.

TSUJI, O. V.; BARBABOSA, I. M.; RIVERA, T. C. Criptococosis-historia natural y estado actual del tratamiento. **Acta Pediátrica de México**, v. 26, n. 1, p. 18-28, 2005.

VANBREUSEGHEM, R.; TAKASHIO, M. An atypical strain of *Cryptococcus neoformans* (Sanfelice) Vuillemin, 1895, II. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* var. nov. **Annales de la Société Belge de Médecine Tropicale**, v.50, p.692–702, 1970.

VIDAL, J. E. et al. Strategies to reduce mortality and morbidity due to AIDS-related cryptococcal meningitis in Latin America. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. 353-362, 2013.

VIEIRA JUNIOR, J. N. **Estudo clinico-epidemiológico da meningite criptocócica em pacientes HIV negativos em um Centro de Referência no Piauí**. 2015. 82f. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, Teresina, 2015.

VIVIANI, M. A. et al. Molecular analysis of 311 *Cryptococcus neoformans* isolates from a 30-month ECMM survey of cryptococcosis in Europe. **Federation of European Microbiological Societies Yeast Research**, v. 6, p. 614-619, Apr. 2006.

WALLI, R.; GOEBEL, F. D.; DEMANT, T. Impaired glucose tolerance and protease inhibitors. **Annals Internal Medicine**, v. 129, p. 837-838, 1998.

WANKE, B.; LAZÉRA, M.S.; NUCCI, M. Fungal infection in immunocompromised host. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p.153-158, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). In: _____. Rapid advice: diagnosis, prevention, and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children. Geneva: WHO Document Production Services, 2011. p. 1-37.

WICKES, B. L. et al. Dimorphism and haploid fruiting in *Cryptococcus neoformans*: association with the alpha-mating type. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 14, p. 7327-7331, July 1996.

ZIMMER, B. L.; HEMPEL, H. O.; GOODMAN, N. L. Pathogenicity of the basidiospores of *Filobasidiella neoformans*. **Mycopathologia**, v. 85, n. 3, p. 149-153, 1984.

APÊNDICES E ANEXOS

APÊNDICE A

	Universidade Federal de Goiás Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde PPG-Ciências da Saúde/UFG	
Projeto de Pesquisa: Caracterização Fenotípica, Molecular e Epidemiológica de Isolados Clínicos de <i>Cryptococcus</i> spp. do Estado de Goiás – Ficha do Paciente		
1) Informações pessoais		
Nome: _____ Prontuário nº: _____		
Data Nasc: ____/____/____ Idade: ____ (na época da coleta) Sexo: () F () M		
Procedência: _____ Área: () urbana () rural		
Naturalidade: _____ Ocupação: _____		
Primeira consulta: ____/____/____ Internação: () Sim ____/____/____ () Não		
2) Fonte suspeita/atividade de risco		
Contato prévio com: () caverna/gruta () excreta de morcegos () excr de aves () galinheiro () outros _____ () Sem informação		
3) Condições clínicas		
Sintomas: início definido () sim [data ou período] _____ () não () alt. visual () anorexia () caquexia () cefaléia () convulsão () diarreia () dispnéia () disúria () dor abdominal () dor torácica () emagrecimento () esplenomegalia () expectoração () febre () fotofobia () taquicardia () HAS () hemorragia () hepatomegalia () HIC () hiporexia () vômito () sepse () lesão _____ () mialgia () náusea () perturbação mental () gânglios _____ () rigidez de nuca () tosse () outros _____		
Forma clínica: () meningoencefalite () criptococemia () meningoencefalite+criptococemia () pulmonar () cutânea () renal () ganglionar () outras formas: _____		
Comorbidade/Fator de risco: () diabetes () hepatopatia () neoplasia () uso crônico de imunossupressor: _____/motivo: _____ () outros _____		
() HIV diagnóstico em ____/____/____ Criptococose foi definidora de AIDS () sim () não TARV: () regular () irregular () sem uso CD4+ _____ CD8+ _____ carga viral (nº de cóp./mL) _____ data do exame mais próxima ao atend ____/____/____		
Co-infecção: () TB () cand. oral () hepatite () CMV () outra _____		
4) Conduta terapêutica		
() anfo. B-deoxicolato () anfo. B-lipossomal () outra anfotericina início: ____/____/____ início: ____/____/____ início: ____/____/____		
() fluconazol () itraconazol () voriconazol () outro _____		

início: __/__/__ início: __/__/__ início: __/__/__ início: __/__/__

Troca de medicamento: () sim/motivo _____ () não

Outros medicamentos relevantes (corticóides, inibidores de TNF, etc): _____

5) Exames realizados

Cultura positiva:

() LCR (nº de ident. da cult/isolado _____ em __/__/__)

() sangue (nº de ident. da cult/isolado _____ em __/__/__)

() urina (nº de ident. da cult/isolado _____ em __/__/__)

() escarro (nº de ident. da cult/isolado _____ em __/__/__)

() líq. pleural (nº de ident. da cult/isolado _____ em __/__/__)

() asp. traqueal (nº de ident. da cult/isolado _____ em __/__/__)

() LBA (nº de ident. da cult/isolado _____ em __/__/__)

() biópsia _____ (nº _____ em __/__/__)

() outros _____ (nº _____ em __/__/__)

Agente etiológico: _____

Exame micológico direto:

() positivo (amostra: _____) () negativo () não realizado

Outros exames realizados (pesquisa de antígeno capsular, histopatológico e de imagem: _____)

6) Evolução/sequelas do paciente

Alta hospitalar: () sim __/__/__ () não

Desfecho: () melhora completa () melhora parcial

Tratamento em regime de hospital-dia: () sim (período: _____) () não

Acompanhamento ambulatorial: () sim (período: _____) () não

Perda de acompanhamento: () sim () não

Óbito: () sim __/__/__ causa: _____

() não _____

Sequelas: () sim Recaída: () sim () não

() não (cultura positiva após 6 meses de tto específico)

Tipo: () amaurose () déficit visual () hidrocoefalia () convulsão

() outra(s) _____

APÊNDICE B



Universidade Federal de Goiás
FACULDADE DE MEDICINA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
PPG-Ciências da Saúde/UFG



DISPENSA DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, **Angelica Lima de Bastos Chagas**, mestranda da Universidade Federal de Goiás do Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde solicito dispensa do TCLE na presente pesquisa intitulada: **“Caracterização Fenotípica, Molecular e Epidemiológica de Isolados Clínicos de *Cryptococcus* spp. do Estado de Goiás”**, que se trata de um estudo observacional, transversal, com dados clínicos - epidemiológicos a serem coletados retrospectivamente de Prontuários Médicos de pacientes com criptococose, atendidos o Hospital de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad em Goiânia -GO, no período de maio de 2011 a maio de 2014. Esses pacientes foram atendidos há muito tempo, sendo difícil o contato, podendo inclusive já ser falecidos.

Sendo assim, comprometo a manter a confidencialidade da identificação pessoal dos pacientes, os quais serão identificados por um código de identificação (código numérico unívoco) e que serve apenas para validar a individualidade da informação.

Goiânia, 07 de setembro de 2015

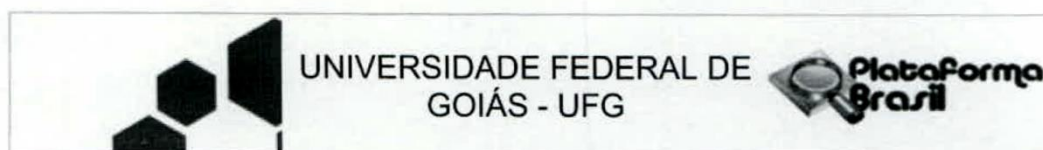
Atenciosamente,

Angelica Lima de Bastos Chagas
Pesquisadora principal

Prof.Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa
Pesquisador (orientador)

Prof. Dr. Paulo Sérgio Sucasas da Costa
COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO
CIÊNCIAS DA SAÚDE - FACULDADE DE MEDICINA - UFG

ANEXO A



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização Fenotípica, Molecular e Epidemiológica de Isolados Clínicos de *Cryptococcus* spp. do Estado de Goiás

Pesquisador: ANGELICA LIMA DE BASTOS CHAGAS

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 48945015.8.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.273.798

Apresentação do Projeto:

Título da Pesquisa: Caracterização Fenotípica, Molecular e Epidemiológica de Isolados Clínicos de *Cryptococcus* spp. do Estado de Goiás

Pesquisador Responsável: ANGELICA LIMA DE BASTOS CHAGAS

Trata-se de um estudo observacional, transversal, descritivo, com dados clínicos - epidemiológicos a serem coletados retrospectivamente. O estudo será realizado em isolados clínicos de *Cryptococcus* identificados e armazenados por congelamento no Laboratório de Micologia do LACEN-GO de maio de 2011 a maio de 2014. Os isolados são provenientes de pacientes com criptococose, atendidos no HDT/HAA. A coleta de dados será iniciada pela consulta dos livros de registros do Laboratório de Micologia e do banco de dados digitalizado do LACEN-GO, sendo registrados em formulário específico. Serão verificadas as culturas positivas para espécies de *Cryptococcus* no período correspondente, obtendo-se os seguintes dados: identificação do paciente, idade, sexo, espécime(s) clínico(s) positivo(s) com registro de identificação laboratorial e número de prontuário. Demais dados demográficos e os clínicos serão obtidos a partir dos prontuários médicos no HDT/HAA. Quanto ao procedimento laboratorial, uma alíquota dos isolados congelados de *Cryptococcus* será utilizada para realização da tipagem molecular pela técnica URA5-RFLP.

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

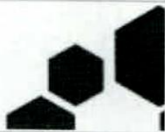
UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - UFG



Continuação do Parecer: 1.273.798

Ausência	DISPENSA_de_TCLE.pdf	08/09/2015 10:26:21	ANGELICA LIMA DE BASTOS CHAGAS	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_compromisso.pdf	08/09/2015 10:25:43	ANGELICA LIMA DE BASTOS CHAGAS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorizacao_DEAM.pdf	08/09/2015 10:24:32	ANGELICA LIMA DE BASTOS CHAGAS	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia.pdf	08/09/2015 10:23:45	ANGELICA LIMA DE BASTOS CHAGAS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.PDF	08/09/2015 09:52:04	ANGELICA LIMA DE BASTOS CHAGAS	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO 555846.pdf	29/07/2015 10:03:59		Aceito
Folha de Rosto	FOLHA DE ROSTO.PDF	29/07/2015 09:57:28		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO Plataforma Brasil.pdf	16/07/2015 10:28:18		Aceito
Outros	Ficha paciente continuação.pdf	16/07/2015 10:27:59		Aceito
Outros	Ficha paciente 1.pdf	16/07/2015 10:27:51		Aceito
Outros	Isenção de TCLE.pdf	16/07/2015 10:27:29		Aceito
Outros	Termo de respons. do pesquisador.pdf	16/07/2015 10:27:16		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Anuência Secretário de Saúde.pdf	16/07/2015 10:26:41		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Anuências Lacen e HDT.pdf	16/07/2015 10:26:29		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorização DEAM.pdf	16/07/2015 10:26:14		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 09 de Outubro de 2015

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

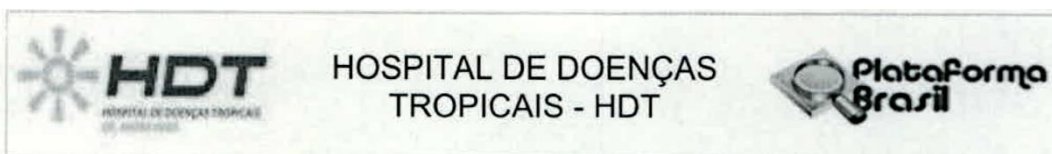
Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpi.ufg@gmail.com

ANEXO B



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização Fenotípica, Molecular e Epidemiológica de Isolados Clínicos de *Cryptococcus* spp. do Estado de Goiás

Pesquisador: ANGELICA LIMA DE BASTOS CHAGAS

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 48945015.8.3001.0034

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.329.282

Apresentação do Projeto:

O Projeto de Pesquisa pretende aplicar técnicas de biologia molecular para identificação do fungo do gênero *Cryptococcus* em isolados clínicos de material armazenado no Laboratório de Micologia do LACEN-GO de pacientes internados no Hospital de Doenças Tropicais de Goiânia - HDT/HAA no período de Maio de 2011 a Maio de 2014, bem como determinar o perfil epidemiológico da criptococose e seus agentes no Estado de Goiás e região de onde os pacientes provêm.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Caracterizar fenotípica e geneticamente *Cryptococcus* spp. provenientes de pacientes com criptococose no estado de Goiás e determinar o perfil epidemiológico da criptococose e de seus agentes nesta região.

Objetivos Específicos:

- Determinar a frequência das espécies de *Cryptococcus* identificadas por técnicas fenotípicas no Laboratório Central de Saúde Dr. Giovanni Cysneiros (LACEN-GO), provenientes de pacientes com criptococose do Hospital de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad (HDT/HAA), no período de Maio de 2011 a Maio de 2014;

- Identificar os genótipos de *Cryptococcus* através da técnica de URA5-RFLP (polimorfismo dos

Endereço: Av. Contorno 3556

Bairro: Jardim Bela Vista

CEP: 74.853-120

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3201-3621

Fax: (62)3201-3620

E-mail: cep.hdt@isgsaude.org



HOSPITAL DE DOENÇAS
TROPICAIS - HDT



Continuação do Parecer: 1.329.282

Outros	Ficha paciente 1.pdf	10:27:51		Aceito
Outros	Isenção de TCLE.pdf	16/07/2015 10:27:29		Aceito
Outros	Termo de respons. do pesquisador.pdf	16/07/2015 10:27:16		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Anuência Secretário de Saúde.pdf	16/07/2015 10:26:41		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Anuências Lacen e HDT.pdf	16/07/2015 10:26:29		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Autorização DEAM.pdf	16/07/2015 10:26:14		Aceito

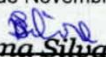
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 19 de Novembro de 2015


Vilma Silva

Coordenadora de Pesquisa

Vilma Aparecida da Silva
(Coordenador)

Endereço: Av. Contorno 3556

Bairro: Jardim Bela Vista

CEP: 74.853-120

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3201-3621

Fax: (62)3201-3620

E-mail: cep.hdt@isgsaude.org

APÊNDICE C

ScholarOne Manuscripts

<https://mc04.manuscriptcentral.com/rsp-scielo>

 Revista de Saúde Pública

 Home

 Author

Submission Confirmation

 Print

Thank you for your submission

Submitted to Revista de Saúde Pública

Manuscript ID RSP-2017-0606

Title PERFIL CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DA CRIPTOCOCOSE EM GOIÁS, SEGUNDO INFECÇÃO PELO HIV

Authors Bastos, Angelica
Barbosa, Maria Tania
Souza, Lucia
Godoy, Cassia
Marques, Solomar
Costa, Paulo

Date Submitted 08-Dec-2017

[Author Dashboard](#)