

**ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA – AC&T**

**Especialização em Microbiologia – 11ª Turma**

**MARCOS FERNANDO SOBRINHO**

**MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DE CRIPTOCOCOSE E SUAS  
FORMAS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL**

**São José do Rio Preto,**

**26 de Agosto de 2023**

**ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA – AC&T**

**Especialização em Microbiologia – 11ª Turma**

**MARCOS FERNANDO SOBRINHO**

**MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DE CRIPTOCOCOSE E SUAS  
FORMAS DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL**

Artigo Científico apresentado à Profa. Dra. Margarete Teresa Gottardo de Almeida e à AC&T - Academia de Ciência e Tecnologia para a obtenção do grau de Especialista em Microbiologia clínica e hospitalar.

**São José do Rio Preto,**

**26 de Agosto de 2023**

## RESUMO

A infecção por *Cryptococcus* ou criptococose é uma doença infecciosa fúngica de distribuição global, causada por fungos leveduriformes do gênero *Cryptococcus*, dentre esses, os principais responsáveis por infecções em humanos são dois grupos: os fungos do complexo de *Cryptococcus neoformans*, e os do complexo de *Cryptococcus gattii*. *C. neoformans* normalmente está associado a infecções oportunistas em pessoas imunocomprometidas, enquanto o *C. gattii* está mais frequentemente associado a infecções em indivíduos imunocompetentes. As principais formas de manifestação da criptococose são a infecção pulmonar e do sistema nervoso central, com a meningite criptocócica sendo forma mais frequente e grave da doença. Os métodos clássicos de diagnóstico incluem a microscopia direta da amostra, a cultura e os exames sorológicos. A ênfase no diagnóstico precoce, e a pesquisa de novas alternativas de tratamento, não só para a criptococose, mas também para outras infecções fúngicas emergentes, é um longo caminho que merece atenção, e deve ser percorrido pelos profissionais de saúde no futuro.

**Palavras-chave:** *Cryptococcus*; Imunodeficiência; Manifestação clínica; Diagnóstico laboratorial.

## ABSTRACT

*Cryptococcus* infection or cryptococcosis is a fungal infectious disease of global distribution, caused by yeast-like fungi of the genus *Cryptococcus*, among which two groups are mainly responsible for infections in humans: the fungi of the *Cryptococcus neoformans* complex, and those of the *Cryptococcus gattii*. *C. neoformans* is usually associated with opportunistic infections in immunocompromised people, while *C. gattii* is more often associated with infections in immunocompetent individuals. The main forms of manifestation of cryptococcosis are lung and central nervous system infection, with cryptococcal meningitis being the most frequent and severe form of the disease. Classic diagnostic methods include direct microscopy of the sample, culture and serological tests. The emphasis on early diagnosis and the search for new treatment alternatives, not only for cryptococcosis, but also for other emerging fungal infections, is a long path that deserves attention, and should be followed by health professionals in the future.

**Keywords:** *Cryptococcus*; Immunodeficiency; Clinical manifestation; Laboratory diagnosis.

## 1. INTRODUÇÃO

A infecção por *Cryptococcus* ou criptococose é uma doença infecciosa fúngica de distribuição global, causada por fungos leveduriformes do gênero *Cryptococcus*, dentre esses, os principais responsáveis por infecções em humanos podem ser divididos em dois grupos: os fungos do complexo de espécies de *Cryptococcus neoformans*, e os do complexo de *Cryptococcus gattii*, que anteriormente já foram considerados como sendo membros da mesma espécie, mas passaram por uma devida separação, constituindo diferentes grupos de espécies nas classificações mais recentes. As duas espécies serão referidas, na maior parte do tempo, de modo generalista como: *C. gattii* e *C. neoformans*, para facilitar as suas descrição e discussões. Existem também relatos de infecções em humanos causadas por outras espécies de *Cryptococcus*, principalmente *C. albidus* e *C. laurentii* (CANO; YETMAR; RAZONABLE, 2020; HAGEN *et al.*, 2015; KWON-CHUNG *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2015; MAZIARZ; PERFECT, 2016).

*C. neoformans* normalmente está associado a infecções oportunistas em pessoas imunocomprometidas, como pacientes transplantados e entre portadores de HIV em fase AIDS, sendo predominantemente uma doença cosmopolita; o *C. gattii* está mais frequentemente associado a infecções em indivíduos imunocompetentes, sendo reconhecido como endêmico em áreas tropicais e subtropicais, onde ocorre de maneira similar a outros agentes causadores de micoses sistêmicas. Manifestações que fogem desses padrões, apesar de bem mais raras, também podem ocorrer, como paciente imunocomprometidos sendo acometidos por infecções de *C. gattii*, ou *C. neoformans* causando doença em pacientes imunocompetentes (AGUIAR *et al.*, 2017; MORETTI *et al.*, 2008).

A infecção se dá, tanto em humanos quanto em animais, principalmente por meio da inalação de leveduras de *Cryptococcus* presentes no ambiente, estando frequentemente associadas ao solo, restos vegetais, excretas secas de aves e tipos diversos de árvores; sendo que também é relatada a presença do fungo no ambiente domiciliar, especialmente na poeira, tal qual outros fungos como o *Aspergillus*. As principais formas de manifestação da criptococose são a infecção pulmonar e do sistema nervoso central (SNC), com a meningite criptocócica sendo forma mais frequente e grave da doença (GUSHIKEN; SAHARIA; BADDLEY, 2021; MACDOUGALL *et al.*, 2011; MORETTI *et al.*, 2008; SABINO *et al.*, 2019).

O diagnóstico de criptococose é facilitado na prática clínica e laboratorial por determinados fatores, entre os quais é possível citar o tropismo do *Cryptococcus* pelo SNC, a comum abundância dele no líquido, a sua cápsula polissacarídica característica, a possibilidade de diagnóstico por meio de exames sorológicos, entre outros. Os métodos clássicos de diagnóstico incluem exames micológicos, como microscopia direta da amostra, normalmente de líquido, usando a coloração de tinta da China (também chamada de tinta Nanquim) para identificação das leveduras; a cultura, que é o padrão ouro do diagnóstico de meningite criptocócica, sendo feita normalmente em meio Sabouraud dextrose, mas com a capacidade de diferenciar *C. neoformans* e *C. gattii* de outras espécies do gênero *Cryptococcus*, e de outras leveduras de interesse médico (com raras exceções), caso seja feita usando meios com extrato de sementes de niger, porém não é algo comum no diagnóstico clínico; e os exames sorológicos, em especial os testes rápidos para antígeno criptocócico, que são recomendados como forma de triagem e diagnóstico precoce da doença (AHMED *et al.*, 2022; GUSHIKEN; SAHARIA; BADDLEY, 2021; MORETTI *et al.*, 2008; WHO, 2022).

O tratamento das infecções por *Cryptococcus* é feito por meio de terapia antifúngica, com medicamentos polienos, como a anfotericina B, azóis, como o fluconazol e a 5-Flucitosina, sendo essa última, uma droga que ainda não é de uso comum nos países em desenvolvimento, porém já tem seu uso disponível na rede pública no Brasil (AGUIAR *et al.*, 2017; DA SILVA *et al.*, 2020; MORETTI *et al.*, 2008).

Existem estimativas de que a meningite criptocócica foi responsável, no ano de 2014, por cerca de 181.100 mortes de pessoas com HIV em todo o mundo, o que totalizou aproximadamente 15% das mortes relacionadas à AIDS globalmente naquele ano, deixando claro que a criptococose, que é por sua vez uma das infecções fúngicas oportunistas mais comumente descritas no geral, tem um potencial de impacto enorme no âmbito da saúde mundial, como uma importante e prevalente causadora tanto de mortalidade, quanto de morbidade (RAJASINGHAM *et al.*, 2019; WHO, 2022).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVOS GERAIS**

Descrever as características das espécies mais relevantes clinicamente de *Cryptococcus* spp., suas manifestações clínicas e patogenia mais comuns, em diferentes tipos de paciente, além de analisar as diferentes formas de diagnóstico laboratorial relacionadas as suas manifestações.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar de modo geral o gênero *Cryptococcus* e as espécies mais relevantes dele no contexto da saúde humana;
- Descrever as manifestações clínicas e patogenia de Criptococose em pacientes imunossuprimidos e imunocompetentes;
- Discorrer sobre as opções de diagnóstico laboratorial disponíveis quanto a sua eficiência, custo-benefício e disponibilidade;
- Analisar brevemente as questões epidemiológicas da doença no contexto do Brasil.

## **3. METODOLOGIA**

Esse trabalho se trata de uma pesquisa básica realizada através de um estudo exploratório com abordagem qualitativa, tendo como base uma revisão bibliográfica narrativa de literatura especializada, tendo os dados e informações utilizados nela sido coletados através de pesquisa computadorizada de artigos, usando diferentes combinações dos descritores “*Cryptococcus*” “clinical manifestations” “humans” “diagnosis” “Brazil” nas plataformas de busca acadêmica Google Acadêmico e PubMed. Foram selecionados artigos escritos em inglês, publicados nos últimos 5 anos e que apresentavam como tema central, ou como parte dele, as infecções por *Cryptococcus*, suas manifestações clínicas, mecanismo de infecção e/ou seu método de diagnóstico.

#### 4. DESENVOLVIMENTO

O gênero de fungos *Cryptococcus* engloba mais de 38 espécies de leveduras basidiomicetas, mas dessas, duas espécies são citadas de maneira mais proeminente no contexto da saúde humana, que são o *Cryptococcus neoformans* e o *Cryptococcus gattii*, ambos considerados patógenos humanos que afetam, principalmente, pessoas que possuem algum grau de comprometimento imunológico, e apesar de algumas das suas similaridades, essas duas espécies são bem distintas entre si. Um ponto de distinção principal entre as duas que pode ser citado, é o fato de que o *C. neoformans* afeta, na maior parte dos casos, paciente imunocomprometidos, manifestando a criptococose na forma de meningoencefalite, e sendo por isso considerado como uma micose oportunista; a taxa de mortalidade das infecções por *C. neoformans* é alta, de 41-61%, e faz dele o 1º lugar na lista de patógenos fúngicos citados pela Organização Mundial da Saúde (OMS/WHO) como prioritários. Enquanto isso, o *C. gattii* tem potencial endêmico em certas regiões, sendo capaz de afetar paciente imunocompetentes, que no seu caso compõe a maioria dos casos, a criptococose causada por ele se manifesta principalmente na forma de infecções pulmonares; sua taxa de mortalidade é mais baixa que do *C. neoformans*, sendo de 10-23% para casos de infecção do sistema nervoso central (SNC), e de 15-21% nos casos de infecção pulmonar, o que também o coloca na lista de patógenos fúngicos prioritários da OMS, no 16º lugar (GUSHIKEN; SAHARIA; BADDLEY, 2021; NOGUCHI *et al.*, 2019; ZHAO *et al.*, 2023).

Várias outras espécies de *Cryptococcus* que não os *C. gattii* e *C. neoformans* podem ser citadas como responsáveis por casos de criptococose em humanos, porém a ocorrência de tais casos é bem rara. Dentre essas outras espécies, entre as mais citadas estão o *C. albidus* e o *C. laurentii*, que são atualmente classificados como complexos de espécies de *Cryptococcus* com seus próprios ramos, sendo atualmente nomeados respectivamente de *Naganishia albidus* e *Papiliotrema laurentii*. Espécies como *Cryptococcus liquefaciens*, *Cryptococcus diffluens*, *Cryptococcus adeliensis*, *Cryptococcus uniguttulatus*, entre outras, também aparecem descritas dentre esses raros casos de criptococose humana; no entanto, a incidência de infecções clinicamente significantes causadas por essas outras espécies é rara, o que faz delas agentes de menor interesse médico, sendo normalmente citadas em casos de criptococose cutânea secundária, e infecções menores em partes diversas do corpo, como em unhas, pele, boca, ouvido externo, entre outros (CANO; YETMAR; RAZONABLE, 2020; GUSHIKEN; SAHARIA; BADDLEY, 2021; MORALES-LOPEZ; GARCIA-EFFRON, 2021).

Os fungos do gênero *Cryptococcus* já passaram por diversas classificações distintas ao longo dos anos, mas no ano de 2015 ocorreram dois marcos importantes na taxonomia de *Cryptococcus*. O primeiro deles sendo a divisão do complexo de espécies *C. neoformans* e do *C. gattii* em sete genótipos haploides e quatro híbridos, usando como base para isso a grande heterogeneidade fenotípica que era demonstrada em diversos estudos e relatos; e assim novos nomes surgiram para substituir as diversas variedades conhecidas até então: *C. neoformans* e *C. deneoformans* substituíram, respectivamente, *C. neoformans* var. *grubii* (sorotipo A, VNI, VNII e VNIII) e *C. neoformans* var. *neoformans* (sorotipo D, VNIV), enquanto do outro lado, o *C. gattii* (sorotipos B e C) foi dividido em 5 espécies: *C. gattii* (VGI), *C. deuterogattii* (VGII), *C. bacillisporus* (VGIII), *C. tetragattii* (VGIV) e *C. decagattii* (VGIV/VGIIIc). O segundo marco importante foi uma extensa revisão da taxonomia do gênero *Cryptococcus*, e com isso, após uma análise filogenética molecular completa, várias mudanças foram propostas, visto que os critérios de inclusão de espécies no gênero *Cryptococcus* se mostraram altamente artificiais, agrupando espécies com múltiplas histórias evolutivas e agrupamentos de espécies de outros gêneros. Desse modo, após essas revisões, os principais patógenos humanos do velho gênero *Cryptococcus* foram reclassificados juntos, como as 7 espécies haploides do antigo complexo de *C. neoformans* e *C. gattii* (e os quatro híbridos), como *Papiliotrema laurentii* (no caso do antigo *C. laurentii*) e como *Naganishia albidus* (no caso do *C. albidus*) (DO CARMO *et al.*, 2022; GUSHIKEN; SAHARIA; BADDLEY, 2021; MORALES-LOPEZ; GARCIA-EFFRON, 2021).

*Cryptococcus* spp. podem ser considerados ubíquas à certos tipos de ambiente, sendo principalmente relatados no solo, principal fonte citada; em fezes de aves, especialmente pombos, que parecem se relacionar diretamente com a dispersão do fungo em ambientes urbanos; e em restos apodrecidos de madeira e vegetais, que, juntamente com o solo, são citados em praticamente todos os casos. Além desses, as cascas de árvores são bastante citadas, especialmente quando se fala do *C. gattii*, sendo o Eucalipto indicado por vários autores como seu principal reservatório, porém ao mesmo tempo, é dito por outros que o enfoque nessa espécie de árvore já foi desmentido, com estudos demonstrando que não existe tal exclusividade, ou realmente preferência, do fungo por ela. E quando se fala de espécies menos comuns de *Cryptococcus*, o escopo de ambientes onde eles podem ser encontrados aumenta, passando a incluir até mesmo frutas e vegetais frescos, água e o ar (CANO; YETMAR; RAZONABLE, 2020; CORREA PINHEIRO *et al.*, 2019; DO CARMO *et al.*,

2022; MORALES-LOPEZ; GARCIA-EFFRON, 2021; NOGUCHI *et al.*, 2019; WANG; LIU; ZHANG, 2022; WU; CHEN; FANG, 2020).

Os *Cryptococcus* spp. afetam principalmente paciente imunocomprometidos, mas também podem afetar pessoas que não possuem nenhuma outra doença subjacente, como é o caso do *C. gattii*, sendo que, de maneira geral, eles demonstram um forte tropismo para com o SNC, onde geram casos de meningoencefalite criptocócica, sua forma de manifestação clássica, que aparece citada como o mais comum tipo de infecção fúngica do SNC em todo o mundo. Os sintomas clínicos da criptococose no SNC são geralmente indistinguíveis de outros tipos de meningite, fato esse que dificulta seu diagnóstico clínico precoce, e torna o diagnóstico laboratorial correto ainda mais relevante; uma vez que os sintomas associados, como o aumento da pressão intracraniana, são fatores que contribuem muito para morbidade e mortalidade da doença. Apesar de ainda não ser totalmente elucidada, se sabe que uma etapa comum e essencial para a maioria das infecções do SNC é a penetração do patógeno através da barreira hematoencefálica (BHE), que no caso da criptococose se sugere que ocorra por meio de 3 possíveis mecanismos, tanto diretos quanto indiretos, sendo a migração paracelular (entre as junções das células endoteliais) e a migração transcelular (através da própria célula endotelial) do próprio *Cryptococcus*, os mecanismos diretos de passagem pela BHE citados, enquanto como mecanismo indireto é citado o “Trojan Horse Mechanism”, que pode ser chamado, em tradução livre, de Mecanismo de Cavalo de Tróia, onde o *Cryptococcus* utiliza de células fagocitárias do próprio corpo como meio de transporte através da BHE (AHMED *et al.*, 2022; GORALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018; GUSHIKEN; SAHARIA; BADDLEY, 2021; SINGHI; SAINI, 2019).

É reconhecido que tais mecanismo exigem que ocorram uma série de interações entre as moléculas da BHE e as do fungo, para que sejam possíveis. Nesse aspecto, um bom exemplo são estudos que analisam as necessidades do *C. neoformans* durante a infecção, entre elas pode ser citado: a ativação da proteína quinase C alfa, para que ele seja capaz de utilizar mecanismos transcelulares, a presença do gene CPS1, para ser possível sua adesão nas proteínas de superfície das células endoteliais, e também do gene Isc1, responsável por hidrolisar inositol e controlar a disseminação do fungo pelo cérebro. Se tratando de mecanismos indiretos, o Mecanismo de Cavalo de Tróia ocorre quando o *Cryptococcus* atravessa a BHE, através do processo de migração transcelular ou paracelular, utilizando das células fagocitárias do próprio organismo, se escondendo e multiplicando no interior delas, tirando vantagem da sua capacidade em resistir aos efeitos da fagocitose para embarcar nessa

viagem, estudos também teorizam que o próprio *Cryptococcus* pode ser responsável por estimular para que a migração do fagócito até o cérebro aconteça (DO CARMO *et al.*, 2022; GORALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018; WU; CHEN; FANG, 2020).

A migração de fagócitos infectados para o cérebro gera inflamação, e tanto essa inflamação, quanto um estado de comprometimento imunológico do indivíduo, por exemplo, são fatores que aumentam a permeabilidade da BHE, esse fato ajuda a esclarecer a forte relação entre infecções do SNC e pacientes imunocomprometidos, já que, como citado, a penetração do patógeno pela BHE é uma etapa essencial para a maioria dos casos de infecção. De modo paralelo, alguns outros fatores que podem causar distúrbios na BHE são processos traumáticos ou cirúrgicos, ação de citocinas como o TNF- $\alpha$ , ativação de micróglias, entre outros; como exemplo, pode ser citado também uma das ações do *C. neoformans*, que é a produção de urease, enzima que acaba facilitando na passagem do patógeno pelo revestimento microcapilar, auxiliando dessa forma na passagem através da BHE. Após a penetração o patógeno passa a se disseminar pelas meninges gerando um efeito inflamatório, que estimula as células nervosas a produzirem citocinas e quimiocinas que, a depender do nível e tipo de interação que os fungos tem com essas células, podem ser tanto estimuladoras do sistema imune, quanto supressoras dele, representando outro ponto chave na infecção do SNC (DO CARMO *et al.*, 2022; GORALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018).

Assim como em outros tipos infecção, nas infecções do SNC a virulência do fungo e a capacidade de ação do sistema imunológico do paciente, são fatores que impactam diretamente na intensidade e na extensão dos agravos. No caso do *Cryptococcus* spp., seus fatores de virulência estão atrelados a diferentes fatores, o primeiro entre os principais sendo a sua característica cápsula polissacarídica, composta principalmente de glucuronoxilomanana (GXM), que segundo estudos teria capacidade de imunomodulação, além de auxiliar o fungo na evasão do sistema imunológico. O segundo fator seria sua capacidade de produzir melanina, que acaba sendo responsável por uma série de ações, como efeito antioxidante, termotolerância, sequestro iônico, desenvolvimento celular, entre outros, todas elas protegendo o fungo de condições ambientais adversas e mecanismos de defesa do organismo, facilitando sua sobrevivência. E como um terceiro fator, a secreção de diversos tipos de enzimas, como por exemplo lacase, fosfolipase e urease, que ele utiliza para degradar proteínas do organismo, além de auxiliar na ação e formação dos fatores anteriores. Estudos apontam diversos fatores extras como fontes de virulência a mais, que variam desde, por exemplo, a formação de biofilme pelo *Cryptococcus*, o uso de ferro na patogênese, mudanças

morfológicas, entre outros (DO CARMO *et al.*, 2022; GORALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018).

Outra forma comum de manifestação das infecções por *Cryptococcus* spp. é a criptococose pulmonar, que pode ser definida como sua forma de infecção primária, causada normalmente pela inalação de esporos de *Cryptococcus*, ela pode se manifestar de maneira aguda, subaguda ou crônica, apresentando sintomas inespecíficos, como tosse, dor no peito, febre e dispneia, podendo até também ser assintomática, mas apresentando também casos na forma de Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA), todos fatores que podem dificultar no seu diagnóstico precoce. De modo paralelo, esses esporos de *Cryptococcus* spp. inalados podem ser fagocitados pelos macrófagos pulmonares, o que aumenta as chances da infecção se espalhar, uma vez que esses fungos podem sobreviver no espaço intracelular dos macrófagos, devido a sua resistência ao estresse oxidativo (um dos mecanismos do organismo para neutralização de patógenos), que se deve à atividade da lacase, enzima também participa da sua síntese de melanina. A infecção geralmente então se espalha a partir do pulmão, seja se disseminando diretamente ou fazendo uso da via hematogênica e da via linfóide, que em todos os casos podem resultar na infecção de outros órgãos e do SNC. As infecções cutâneas também valem a pena ser citadas, já que é possível a sua disseminação caso as células fúngicas entrem em contato com o sangue através de feridas, sendo que a criptococose cutânea pode ser de origem primária, isso ocorre quando por conta de algum evento traumático contra a pele o fungo é inoculado diretamente nela; e pode ser de origem secundária quando é uma consequência da disseminação hematogênica do fungo pelo organismo. Outros tipos de manifestações são atípicas, mas de modo geral também estão ligadas à eventos traumáticos de implantação do fungo ao sítio infectado, ou à infecção disseminada (GORALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018; RAJASINGHAM *et al.*, 2019; WANG; LIU; ZHANG, 2022; WU; CHEN; FANG, 2020).

Os métodos de diagnóstico de *Cryptococcus* spp. seguem bastante a linha dos exames micológicos padrões, sendo tipicamente feita através de sorologia, microscopia e cultura. Um método famoso relacionado a eles é a microscopia direta usando coloração de tinta da China (ou tinta Nanquim), especialmente em casos de meningite criptocócica, já que a espessa cápsula polissacarídica clássica da espécie, quando presente, faz com que as leveduras se destaquem facilmente em meio ao corante, que preenche o fundo dos campos do microscópio, uma vez que a cápsula impede sua absorção, formando um halo de luz ao redor da levedura quando observada através do microscópio óptico. A microscopia é dita como uma técnica de

boa especificidade para *Cryptococcus*, especialmente em amostra de líquido e outros fluidos corporais, sendo um teste barato e de fácil execução para identificação do fungo, esse fato o torna acessível em locais com recursos escassos, que acabam sendo onde a maioria dos casos de infecção criptocócica ocorre; mas a sensibilidade desse método é baixa, sendo citada como algo entorno de 86%, além de apresentar resultados mais incertos em alguns casos, como nos de pacientes com a doença em estágio inicial, que apresentam uma carga fúngica menor, além de ser um método que depende bastante da capacidade de leitura e interpretação correta da lâmina pelo leitor. Por conta disso, a microscopia vem perdendo espaço e se tornando um método de diagnóstico menos comum, usado apenas de maneira complementar, especialmente em locais que tem fácil acesso à testes rápidos imunocromatográficos para criptococose, método que vem se popularizando (RAJASINGHAM *et al.*, 2019; WHO, 2022; ZHAO *et al.*, 2023).

As diretrizes mais recentes e atualizadas recomendam, com ênfase, que o diagnóstico inicial da criptococose, especialmente em pacientes com HIV, seja feito através de testes rápidos imunocromatográficos de fluxo lateral, popularmente chamados de testes rápidos, para antígeno criptocócico (CrAg). Seu princípio gira entorno da identificação de CrAg nas amostras, que, caso presentes, vão se ligar nos anticorpos anticriptocócicos presentes na fita teste, formando uma linha visível; algo relevante de se ressaltar é a necessidade de se fazer esses testes em duplicata, para confirmação de diagnósticos positivo, em casos onde a criptococose não era a suspeita principal. Essa técnica tem caráter qualitativo, podendo também ser semiquantitativo em alguns modelos, e vem recebendo certo destaque, já que não há necessidade de uma grande estrutura laboratorial, ou treinamento especializado, para que ela possa ser utilizada, podendo ser executada sem problemas em clínicas, ou no próprio leito do paciente se necessário, não tendo necessidade de refrigeração, e com resultados disponíveis dentro de aproximadamente 10 minutos, e estudos apontando o teste como mais sensível que a cultura de líquido para meningite criptocócica. Mas apesar de tudo isso, existem ressalvas quanto a técnica, uma delas sendo que essa alta sensibilidade pode levar a resultados falso-positivos mais facilmente, reforçando a necessidade de testes em duplicata dependendo do caso, como foi citado; o teste também pode sofrer do fenômeno prozona, principalmente em pacientes com carga fúngica elevada, que pode levar a resultados falso-negativos; além de não ser capaz de distinguir entre as espécies de *C. neoformans* das de *C. gattii*, reforçando o fato de que a cultura continua um método importante no diagnóstico a nível de espécie. No final das contas, o destaque dos testes rápidos não é indevido, uma vez que ele auxilia

bastante no diagnóstico precoce das criptococoses, sendo usado e sugerido por muitos como um bom teste para triagem, na identificação da infecção e início do tratamento o mais rápido possível, todos pontos chave na redução da morbidade e mortalidade geradas por essas doenças (RAJASINGHAM *et al.*, 2019; SCHUB *et al.*, 2021; WHO, 2022; ZHAO *et al.*, 2023).

O método padrão ouro para diagnóstico de meningite criptocócica é a cultura de líquido, que além de ser um bom indicativo de infecção ativa, ela é essencial para o isolamento da espécie presente na amostra; mas cuja principal desvantagem precisa ser citada, que é o tempo, já que ela necessita de dias, podendo chegar a até 1 ou 2 semanas, para apresentar resultados de diagnóstico definitivos, fato esse que favoreceu o surgimento de outros métodos diagnósticos mais rápidos. Mas apesar de pouco comuns na rotina, o valor clínico das culturas de líquido quantitativas para *Cryptococcus* não deve ser subestimado, já que elas ainda são parte fundamental do diagnóstico definitivo de meningite criptocócica, forma principal de manifestação da criptococose. Ainda nesse aspecto, as culturas são muito úteis para uma série de questões, como no cálculo do nível de carga fúngica do paciente, permitindo monitorar a taxa de depuração do *Cryptococcus* no líquido, auxiliando dessa forma no monitoramento da eficácia terapêutica; sendo um método de fácil execução em laboratórios de microbiologia, que faz uso da amostra em uma série de diluições, semeada por esgotamento em diferentes placas, normalmente de meio Ágar Sabouraud dextrose. Como último paralelo, culturas feitas em meio com extrato de semente de niger (Ágar niger) podem ser úteis no isolamento das espécies mais importantes de *Cryptococcus*, pois o crescimento de colônias marrom escuras nele, permite distinguir *C. neoformans* e *C. gattii* de outras espécies do gênero, além de outros gêneros de fungos, mas não é um método comum no diagnóstico clínico; a também pode ser realizada para outras formas de manifestações da doença; sendo cultivada a partir de outros tipos de amostras, porém isso é mais raro (GUSHIKEN; SAHARIA; BADDLEY, 2021; MIRPOURIAN *et al.*, 2021; RAJASINGHAM *et al.*, 2019; ZHAO *et al.*, 2023).

Existem outras formas de diagnóstico menos comuns, mesmo que por razões diferentes, uma delas são os métodos moleculares, como PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) específico para *Cryptococcus*, que apesar do seu potencial promissor para o futuro, se mostra como uma opção custosa e de difícil acesso em grande parte dos casos; sendo um dos motivos dos poucos estudos avaliando a sua performance no diagnóstico clínico, mas sua capacidade para a identificação de diferentes espécies do gênero é uma das razões do seu grande potencial. A biópsia e a histologia são métodos de diagnóstico da

criptococose em casos de infecções de pele (também podendo ser feita a cultura), nesses casos o aspecto das lesões é muito variável, podendo imitar a aparência de outras doenças, aumentando a importância desse tipo de diagnóstico. Exames de hemocultura também são citados por alguns autores, mas caem no mesmo dilema do tempo da cultura e de custo, além de tenderem a apresentar resultados negativos em casos de meningite meningocócica, mas podem apresentar positividade em alguns casos, como os de infecção disseminada ou em pacientes portadores de HIV em fase AIDS (GORALSKA; BLASZKOWSKA; DZIKOWIEC, 2018; RAJASINGHAM *et al.*, 2019; SCHUB *et al.*, 2021; WHO, 2022; WU; CHEN; FANG, 2020).

O tratamento de infecções fúngicas invasivas é desafiador como um todo, já que está limitado normalmente a 4 classes de antifúngicos, que seriam: azóis, polienos, pirimidinas e equinocandinas; e no contexto da criptococose, devido a resistência intrínseca dos *Cryptococcus* à equinocandinas as opções diminuem mais, com o tratamento sendo normalmente limitado a polienos, como a anfotericina B, azóis (que alguns estudos apontam já haver cepas resistentes a eles circulando) e flucitosina. O seu padrão ouro de tratamento, segundo citado por alguns autores, seria a terapia combinada de anfotericina B e flucitosina (5-FC), já que permite uma ação fungicida mais rápida, gerando aumento nas chances de sobrevivência do paciente; como alternativa a essa combinação, a OMS recomenda o uso de anfotericina B e fluconazol, deixando claro que o uso de um único antifúngico no início do tratamento não é recomendado. Por fim, a criptococose, especialmente quando gerada pelo *Cryptococcus neoformans*, é tida como particularmente crítica, sendo agrupada junto de outras infecções fúngicas, como as causadas por *Candida auris*, *Aspergillus fumigatus*, e *Candida albicans*, essa classificação se baseia em diversos fatores, entre eles pode ser citado para o *C. neoformans*: a dificuldade no tratamento dessas infecções, devido à resistência aos antifúngicos que muitas cepas apresentam, a falta de diagnósticos precoces, a alta incidência anual de casos, difícil tratamento somado às poucas opções terapêuticas disponíveis, além das diversas complicações e sequelas que podem advir da doença, tudo isso ajuda no final das contas a compor as altas taxas de mortalidade que essas infecções apresentam. (DA SILVA *et al.*, 2020; GUSHIKEN; SAHARIA; BADDLEY, 2021; WHO, 2022; ZHAO *et al.*, 2023).

No contexto do Brasil, a avaliação da incidência exata de casos de infecção por *Cryptococcus* spp. não está disponível, e calcular números exatos é uma tarefa difícil, uma vez que ela não é uma doença de notificação compulsória no país, e que o próprio Brasil ainda carece em muitas regiões de estrutura adequada, seja para a integração de dados, ou

para a própria identificação adequada das espécies envolvidas, isso vale não só para a criptococose, mas também para outras diversas doenças. Já foram feitos numerosos estudos e levantamentos relacionados a criptococose no Brasil, alguns de seus achados incluem: o *C. gattii* se mostrando endêmico nas regiões norte e nordeste do Brasil, sendo o VGII o genótipo predominante dos casos de criptococose endêmica em imunocompetentes na região nordeste; nas regiões sudeste e sul, o agente predominante em casos humanas sendo o *C. neoformans* sorotipo A, VNI, normalmente associado a pacientes com AIDS, estando presente também em outras regiões do país, nesse mesmo contexto, especialmente na região norte (CORREA PINHEIRO *et al.*, 2019; DA SILVA *et al.*, 2020; DO CARMO *et al.*, 2022).

## 5. CONCLUSÕES

As infecções por *Cryptococcus* spp. são um assunto importante, que desperta a atenção durante estudos relacionados a saúde pública, especialmente devido à forte correlação entre elas e infecções oportunistas, que com a grande incidência de doenças e condições que causam comprometimento imunológico, além do aumento da expectativa de vida e envelhecimento da população global, tornam a criptococose um assunto relevante para pesquisas médicas e epidemiológicas, e a recente atenção da OMS quanto a ela não é indevida, como fica claro pela suas altas taxas de mortalidade. Por fim, apesar da maior acessibilidade, e custos relativamente menores, gerados pelos testes rápidos cada vez mais disponíveis atualmente, não se pode negar que eles estão longe de fazer parte da realidade diagnóstica em países menos desenvolvidos, que ainda precisam se basear em métodos antigos, mas já consagrados, de diagnóstico; por essa razão. a ênfase no diagnóstico precoce, e a pesquisa de novas alternativas de tratamento, não só para a criptococose, mas também para outras infecções fúngicas emergentes, é um longo caminho que merece atenção, e deve ser percorrido pelos profissionais de saúde no futuro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, P.; PEDROSO, R. D. S.; BORGES, A. S.; MOREIRA, T. A.; ARAUJO, L. B.; RODER, D. **The epidemiology of cryptococcosis and the characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated in a Brazilian University Hospital.** Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 59, p. e13, Apr 13 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-9946201759013>.

AHMED, S.; SAINI, J.; NETRAVATHI, M.; MANOHAR, P.; CHANDRASHEKAR, N. ***Cryptococcus gattii*: A Poseur to Behold!** Cureus, 14, n. 8, p. e28344, Aug 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.7759/cureus.28344>.

CANO, E. J.; YETMAR, Z. A.; RAZONABLE, R. R. ***Cryptococcus* Species Other Than *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*: Are They Clinically Significant?** Open Forum Infect Dis, 7, n. 12, p. ofaa527, Dec 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/ofid/ofaa527>.

CORREA PINHEIRO, M.; DOS REIS, D. S. T.; DE BRITO, M.; SIMOES QUARESMA, J. A. ***Cryptococcosis in the Amazon: A current overview and future perspectives.*** Acta Trop, 197, p. 105023, Sep 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.05.014>.

DA SILVA, L. B.; BOCK, D.; KLAFKE, G. B.; SANCHOTENE, K. O.; BASSO, R. P.; BENELLI, J. L.; POESTER, V. R.; DA SILVA, F. A.; TRILLES, L.; SEVERO, C. B.; STEVENS, D. A.; XAVIER, M. O. ***Cryptococcosis in HIV-AIDS patients from Southern Brazil: Still a major problem.*** J Mycol Med, 30, n. 4, p. 101044, Dec 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2020.101044>.

DO CARMO, F. N.; DE CAMARGO FENLEY, J.; GARCIA, M. T.; ROSSONI, R. D.; JUNQUEIRA, J. C.; DE BARROS, P. P.; SCORZONI, L. ***Cryptococcus spp. and Cryptococcosis: focusing on the infection in Brazil.*** Braz J Microbiol, 53, n. 3, p. 1321-1337, Sep 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s42770-022-00744-y>.

GORALSKA, K.; BLASZKOWSKA, J.; DZIKOWIEC, M. **Neuroinfections caused by fungi.** Infection, 46, n. 4, p. 443-459, Aug 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-018-1152-2>.

GUSHIKEN, A. C.; SAHARIA, K. K.; BADDLEY, J. W. **Cryptococcosis**. Infect Dis Clin North Am, 35, n. 2, p. 493-514, Jun 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2021.03.012>.

HAGEN, F.; KHAYHAN, K.; THEELEN, B.; KOLECKA, A.; POLACHEK, I.; SIONOV, E.; FALK, R.; PARNMEN, S.; LUMBSCH, H. T.; BOEKHOUT, T. **Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex**. Fungal Genet Biol, 78, p. 16-48, May 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2015.02.009>.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E.; WICKES, B. L.; MEYER, W.; CUOMO, C. A.; WOLLENBURG, K. R.; BICANIC, T. A.; CASTANEDA, E.; CHANG, Y. C.; CHEN, J.; COGLIATI, M.; DROMER, F.; ELLIS, D.; FILLER, S. G.; FISHER, M. C.; HARRISON, T. S.; HOLLAND, S. M.; KOHNO, S.; KRONSTAD, J. W.; LAZERA, M.; LEVITZ, S. M.; LIONAKIS, M. S.; MAY, R. C.; NGAMSKULRONGROJ, P.; PAPPAS, P. G.; PERFECT, J. R.; RICKERTS, V.; SORRELL, T. C.; WALSH, T. J.; WILLIAMSON, P. R.; XU, J.; ZELAZNY, A. M.; CASADEVALL, A. **The Case for Adopting the "Species Complex" Nomenclature for the Etiologic Agents of Cryptococcosis**. mSphere, 2, n. 1, Jan-Feb 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/mSphere.00357-16>.

LIU, X. Z.; WANG, Q. M.; GOKER, M.; GROENEWALD, M.; KACHALKIN, A. V.; LUMBSCH, H. T.; MILLANES, A. M.; WEDIN, M.; YURKOV, A. M.; BOEKHOUT, T.; BAI, F. Y. **Towards an integrated phylogenetic classification of the Tremellomycetes**. Stud Mycol, 81, p. 85-147, Jun 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.simyco.2015.12.001>.

MACDOUGALL, L.; FYFE, M.; ROMNEY, M.; STARR, M.; GALANIS, E. **Risk factors for *Cryptococcus gattii* infection, British Columbia, Canada**. Emerg Infect Dis, 17, n. 2, p. 193-199, Feb 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1702.101020>.

MAZIARZ, E. K.; PERFECT, J. R. **Cryptococcosis**. Infect Dis Clin North Am, 30, n. 1, p. 179-206, Mar 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.006>.

MIRPOURIAN, S. S.; SHARIFI, N.; TALAZADEH, F.; JAFARI, R. A.; GHORBANPOOR, M. **Isolation, molecular identification, and phylogenetic evaluation of *Cryptococcus neoformans* isolated from pigeon lofts, Psittaciformes, and Passeriformes in Ahvaz, Iran**. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 76, p. 101618, Jun 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2021.101618>.

MORALES-LOPEZ, S. E.; GARCIA-EFFRON, G. **Infections due to Rare Cryptococcus Species. A Literature Review.** J Fungi (Basel), 7, n. 4, Apr 7 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/jof7040279>.

MORETTI, M. L.; RESENDE, M. R.; LAZERA, M. S.; COLOMBO, A. L.; SHIKANAI-YASUDA, M. A. [**Guidelines in cryptococcosis--2008**]. Rev Soc Bras Med Trop, 41, n. 5, p. 524-544, Sep-Oct 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822008000500022>.

NOGUCHI, H.; MATSUMOTO, T.; KIMURA, U.; HIRUMA, M.; KUSUHARA, M.; IHN, H. **Cutaneous Cryptococcosis.** Med Mycol J, 60, n. 4, p. 101-107, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3314/mmj.19.008>.

RAJASINGHAM, R.; WAKE, R. M.; BEYENE, T.; KATENDE, A.; LETANG, E.; BOULWARE, D. R. **Cryptococcal Meningitis Diagnostics and Screening in the Era of Point-of-Care Laboratory Testing.** J Clin Microbiol, 57, n. 1, Jan 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01238-18>.

SABINO, R.; VERISSIMO, C.; VIEGAS, C.; VIEGAS, S.; BRANDAO, J.; ALVES-CORREIA, M.; BORREGO, L. M.; CLEMONS, K. V.; STEVENS, D. A.; RICHARDSON, M. **The role of occupational Aspergillus exposure in the development of diseases.** Med Mycol, 57, n. Supplement\_2, p. S196-S205, Apr 1 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/mmy/myy090>.

SCHUB, T.; FORSTER, J.; SUERBAUM, S.; WAGENER, J.; DICHTL, K. **Comparison of a Lateral Flow Assay and a Latex Agglutination Test for the Diagnosis of Cryptococcus Neoformans Infection.** Curr Microbiol, 78, n. 11, p. 3989-3995, Nov 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-021-02664-w>.

SINGHI, P.; SAINI, A. G. **Fungal and Parasitic CNS Infections.** Indian J Pediatr, 86, n. 1, p. 83-90, Jan 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12098-017-2487-x>.

WANG, T.; LIU, M.; ZHANG, F. **Clinical Diagnosis, Treatment, and Laboratory Detection of 50 Cases of Pulmonary Cryptococcosis.** Comput Math Methods Med, 2022, p. 7981472, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2022/7981472>.

WHO. *In: Guidelines for Diagnosing, Preventing and Managing Cryptococcal Disease Among Adults, Adolescents and Children Living with HIV.* Geneva, 2022. (WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee).

WU, H. H.; CHEN, Y. X.; FANG, S. Y. **Clinicopathological features of isolated pulmonary cryptococcosis in HIV-negative patients.** J Int Med Res, 48, n. 6, p. 300060520927877, Jun 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/0300060520927877>.

ZHAO, Y.; YE, L.; ZHAO, F.; ZHANG, L.; LU, Z.; CHU, T.; WANG, S.; LIU, Z.; SUN, Y.; CHEN, M.; LIAO, G.; DING, C.; XU, Y.; LIAO, W.; WANG, L. **Cryptococcus neoformans, a global threat to human health.** Infect Dis Poverty, 12, n. 1, p. 20, Mar 17 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s40249-023-01073-4>.