

ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA DOS PRINCIPAIS ASPECTOS DA CRIPTOCOCOSE

Maricleia Freitas Rêgo¹
Raudsom Eduardo Rodrigues Fontes²
Wemerson Silva do Nascimento³
Orientadora: Profª. Ma. Hildene Meneses e Silva⁴

Resumo: Fungos do complexo *Cryptococcus neoformans* são cosmopolitas capsulados causadores da criptococose. Essa doença está relacionada principalmente com duas espécies patogênicas: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. A infecção ocorre com a inalação de propágulos e o desenvolvimento da doença está relacionado a diferentes fatores relacionados ao hospedeiro. Este estudo objetiva descrever a fisiopatologia da doença, abordar os fatores de virulência, citar os métodos diagnósticos além de relatar a terapia para a criptococose. Esta doença é relevante, tornando-se necessárias novas descobertas no âmbito farmacológico a fim de melhorar o prognóstico da doença.

Palavras-Chave: *Cryptococcus*; Fisiopatologia; Criptococose.

Abstract: Fungi of the complex *Cryptococcus neoformans* are a cosmopolitan fungus capsulated causing cryptococcosis. This disease is mainly related to two pathogenic species: *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. The infection occurs with the inhalation of propagules and the development of the disease is related to different factors related to the host. This study aims to describe the pathophysiology of the disease, to access the virulence factors, to cite the diagnostic methods in addition to reporting the therapy for cryptococcosis. This disease is of significant importance, making it necessary to find new pharmacological findings in order to improve the prognosis of the disease and its treatment.

Key Words: *Cryptococcus*; Physiopathology; Cryptococcosis.

1 INTRODUÇÃO

Criptococose é uma micose oportunista sistêmica grave causada por leveduras encapsuladas do complexo *Cryptococcus neoformans* (*Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*) (KWON-CHUNG; *et al.*, 2014). Existem mais de 30 espécies do gênero *Cryptococcus*, sendo *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* capazes de causar infecção em humanos (BRASIL, 2012; PIZANI; SANTOS, 2017).

¹ Graduada em Biomedicina (Ananguera – Anápolis/GO) e pós-graduada em Microbiologia Clínica (UniEvangélica – GO), e-mail: maricleia-15@hotmail.com.

² Graduado em Biomedicina (Ananguera – Brasília/DF) e pós-graduado em Microbiologia Clínica (UniEvangélica – GO), e-mail: raudsom@hotmail.com.

³ Graduado em Farmácia bioquímica (Unigranrio – RJ) e pós-graduado em Microbiologia Clínica (UniEvangélica – GO), e-mail: wemersonnas@hotmail.com.

⁴ Graduada e Mestre em Biomedicina (PUC – Goiânia/GO), e-mail: hilmeneses@hotmail.com.

Cryptococcus neoformans foi isolado pela primeira vez do suco de pêssago, em 1894, na Itália, por Francesco Sanfelice, que o denominou de *Saccharomyces neoformans*. No mesmo ano, o patologista Otto Busse descreveu o primeiro caso de criptococose isolado de uma lesão na tíbia e o chamou de *Saccharomyces* (KWON-CHUNG; *et al.*, 2014).

Durante várias décadas, os agentes da criptococose foram agrupados em duas espécies que incluíram cinco sorotipos: a espécie *C. neoformans* compreende os sorotipos A (*var. grubii*), D (*var. neoformans*) e o híbrido AD, que apresenta características de ambos os sorotipos A e D, enquanto a espécie *C. gattii* abrange os sorotipos B e C (KWON-CHUNG; *et al.*, 2014).

Segundo Tello *et al.*, 2013, os chamado teleormos no estado de reprodução sexual foram classificados nos gêneros *Filobasidiella neoformans* e *Filobasidiella bacillispora*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

O *Cryptococcus* causa cerca de um milhão de novos casos de criptococose por ano, onde são registrados aproximadamente cerca de 625 mil mortes nos primeiros três meses após a infecção (PIZANI; SANTOS, 2017).

C. neoformans é fungo cosmopolita, de ampla distribuição mundial e encontrada principalmente em excretas dessecadas de aves, especialmente de pombos (EMMONS, 1955; LI; MODY, 2010). Essa espécie acomete indivíduos imunocomprometidos, principalmente os portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (AGUIAR, *et al.*; 2017). *C. gattii* é encontrado em áreas de plantações de eucaliptos em climas tropicais e subtropicais (KWON-CHUNG; BENNETT, 1984; ELLIS; PFEIFFER, 1990; CHEN; MEYER; SORRELL, 2014). Normalmente, causa infecção em pessoas imunocompetentes, sendo considerado como um patógeno primário (BIELSKA; MAY, 2016).

2.2 FISIOPATOLOGIA

A infecção fúngica acontece por meio da inalação de partículas suspensas no ar em forma de basidiósporos e/ou leveduras dessecadas não capsuladas ou com cápsulas, que podem levar a uma pneumonia que quase sempre é subclínica ou transitória (SILVA, GAGLIANI; 2014; ALMEIDA, 2012).

Na criptococose pulmonar pode ocorrer colonização assintomática até formas graves disseminadas, além de achados como infiltrado difuso e nódulos, que são confundidos com tuberculose. Os sintomas clínicos mais frequentes são: tosse, dispneia, emagrecimento, dores torácicas e empiema podendo causar insuficiência pulmonar (ALMEIDA, 2012).

Posteriormente a infecção pulmonar, o fungo pode propagar-se via hematogênica ou linfática para outras partes do corpo, contudo, existe um tropismo pelo sistema nervoso central (SNC) (SILVA, GAGLIANI; 2014).

O tropismo da levedura pelo SNC ocorre principalmente no fornecimento de condições favoráveis como multiplicação em baixa tensão de O₂ e alta tensão de CO₂, além da concentração de catecolamina, que favorece ao fungo síntese de melanina (BACKES *et al*, 2016). Os sinais e sintomas na infecção no SNC incluem: febre, mal estar, cefaleia constante e vômito, além de alterações visuais e mentais (ALMEIDA, MACHADO, 2014; PIZANI; SANTOS, 2017).

A infecção criptocócica cutânea é a terceira forma mais comum de se manifestar a doença em humanos (AKRAM; KOIRALA, 2017). As pessoas portadores de HIV são os mais vulneráveis ao comprometimento da pele que corresponde aproximadamente cerca de 15-20% do indivíduos (KHURAIJAM *et al*, 2015). As lesões primárias apresentam de forma maculopapular com ulceração central ou lesão nodular violácea, sendo, portanto as mais comuns: acneiformes, púrpura, vesículas, nódulos, abscessos, úlceras, granulomas, pústulas, seios drenantes e celulite. Podem apresentar-se de forma assintomática sem sinais de febre e inflamação (WANG *et al*, 2015; AKRAM; KOIRALA, 2017).

2.3 FATORES DE VIRULÊNCIA

Os fatores de virulência são estratégias utilizadas pelo fungo como forma de sobrevivência dentro do hospedeiro (PARK *et al.*, 2009).

2.3.1 Cápsula de Polissacarídeo

A cápsula criptocócica, composta principalmente por glucuronoxilomanano (manose, xilose e ácido glucurônico), glucuronoxilomanogalactano e manoproteínas, configura importante mecanismo de resistência e evasão do sistema imunológico (BIELSKA, MAY; 2016). Essa cápsula é ancorada pela parede celular, a qual é composta por glucanos, quitina, quitosana e glicoproteínas (KWON-CHUNG; *et al.*, 2014). Durante o processo infeccioso, a cápsula modula respostas imunológicas mascarando padrões moleculares associados aos patógenos criptocócicos (PAMPs) evitando processos de fagocitose (ALMEIDA; *et al.*, 2015; WAGER *et al.*, 2016).

2.3.2 Formação de Melanina

A melanina confere às espécies do complexo *C. neoformans* uma importante proteção aos danos oxidativos (variações térmicas) e resistência a drogas antifúngicas, o que a caracteriza como importante fator de virulência (ALMEIDA; *et al.*, 2015).

Somado a isso, a melanina proporciona a essas espécies vantagens na sobrevivência no hospedeiro ao desempenhar proteção contra a fagocitose (KWON-CHUNG; *et al.*, 2014).

2.3.3 Sobrevivência Dentro do Macrófago

Um dos principais meios de virulência das espécies do complexo *C. neoformans* é a capacidade de sobreviver dentro dos macrófagos após serem fagocitados, que podem ter sido adquiridos através da seleção natural por meio de interação fungo-ameba ao longo dos anos (BIELSKA, MAY; 2016).

2.4 CRESCIMENTO A 37°C (TERMOTOLERANTES)

As espécies de *C. neoformans* e *C. gattii* são termoestáveis, sendo assim, as únicas capazes de causar infecções no homem. Essa capacidade de se adaptar à temperatura corporal é devido a presença do gene calcineurina. Isolados que não possuem esse gene não são considerados patogênicos (LIU et al., 1991) (KWON-CHUNG; et al., 2014).

2.5 ENZIMAS DE DEGRADAÇÃO EXTRACELULARES

A uréase é considerada um importante fator de virulência, uma vez que, atribui ao fungo capacidade de subsistir e crescer nas excretas aviárias (a enzima catalisa a hidrólise da ureia em amônia e carbamato), além de contribuir pela passagem da barreira hematoencefálica (ALMEIDA; et al., 2015; COELHO; CASADEVALL, 2016). A fosfolipase está associada ao desencadeamento da infecção por *C. neoformans* e *C. gattii*, que por sua vez potencializam a aderência celular, lesando os tecidos e favorecendo o desenvolvimento fúngico. As proteases contribuem para degradação de proteínas e auxiliam na invasão do tecido infectado e evasão das defesas do hospedeiro. A metaloprotease foi investigada em recentes estudos que evidenciaram importante participação na invasão do SNC e na infecção murina. As fosfatases possuem papel fundamental ao auxiliar a adesão dos fungos do complexo aos tecidos do hospedeiro contribuindo significativamente para instalação da infecção (ALMEIDA; et al., 2015).

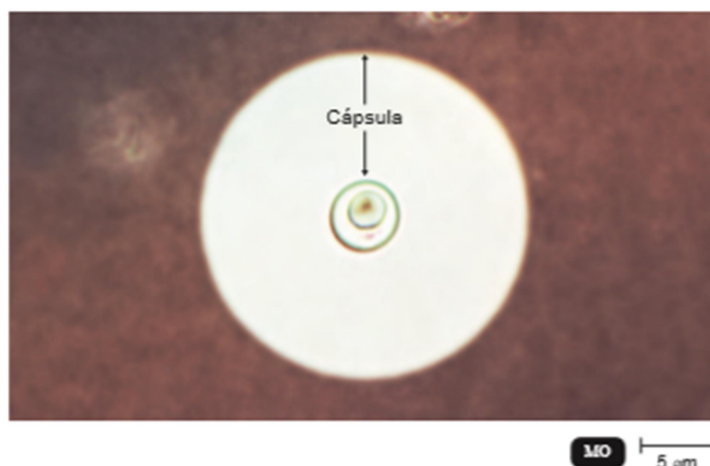


Figura 1. Fotomicrográfrica da cápsula de espécies do complexo *Cryptococcus neoformans* em suspensão de células em tinta nanquim diluída. Fonte: (TORTORA *et al.*, 2012).

2.6 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de criptococose é feito rotineiramente pelo isolamento da levedura e pela detecção do fungo no exame direto de amostras clínicas. A identificação por meio do método da tinta nanquim (ou tinta da China, como é conhecida popularmente) é realizada por microscopia direta no líquido, secreções, tecidos, aspirado subcutâneo, pus e sangue. Por meio do exame direto é possível a visualização das leveduras (McPHERSON; PINCUS, 2012; ANVISA, 2004).

Os meios mais indicados para cultura de espécies de *Cryptococcus*, são ágar *Sabouraud*, ágar sangue e o ágar infusão de cérebro-coração, em temperaturas que variam de 25°C a 37°C (ALMEIDA, 2012; PIZANI; SANTOS, 2017). Uma vez que ocorra a disseminação do fungo, a hemocultura poderá ser empregada como mais uma ferramenta diagnóstica (LACAZ *et al.*, 2002; ALMEIDA, 2012).

Existem outros métodos utilizados para o diagnóstico da criptococose como histopatologia e sorologia. Testes moleculares são precisos, porém sua aplicação é restrita por causa do custo elevado (MAZIARZ, PERFECT 2016). Biologia molecular, apesar de restrita em rotina, tem sido aplicada para identificação

ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA DOS PRINCIPAIS ASPECTOS DA CRIPTOCOCOSE

Maricleia Freitas Rêgo¹; Raudsom Eduardo Rodrigues Fontes²; Wemerson Silva do Nascimento³; Hildene Meneses e Silva⁴

e diferenciação das espécies de *C. neoformans* e *C. gattii*, sendo a técnica baseada na reação em cadeia da polimerase PCR (polymerase chain reaction), a mais utilizada (TELLO; et al., 2013).

O diagnóstico sorológico para criptococose em pacientes com sinais e sintomas clínicos, pode ser utilizado tanto para detectar antígenos como para pesquisa de anticorpos. Dos testes sorológicos, aglutinação de látex e o teste de *ELISA* são os mais realizados por apresentarem altas sensibilidade e especificidade (SILVA, GAGLIANI; 2014; PERFECT, BICANIC; 2015).

A histopatologia da criptococose é realizada por meio de técnicas histoquímicas utilizando as colorações de hematoxilina-eosina e Gomori-Grocott, Mucicarmim de Mayer e Fontana-Masson. *Cryptococcus sp* pode apresentar-se com grande quantidade de fungos de cápsulas volumosas ou na forma granulomatosa, caracterizado pela presença de granulomas epitelioides, células gigantes com proliferação de linfoblastos e linfócitos (PEDROSO, CANDIDO; 2006; SEVERO *et al.*, 2009).

Provas bioquímicas são amplamente utilizadas para diferenciação de espécies do complexo *C. neoformans*. Dentre os testes realizados, o meio à base de ureia é aplicado para diferenciar a levedura das espécies de *Candida*, pois, possui a capacidade de hidrolisar a ureia em amônia e CO₂ e essa reação poderá ser vista com a adição de vermelho de fenol ao meio. Outro meio de cultura empregado para diferenciar *C. neoformans* de *C. gattii* é o canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB) cujo princípio está baseado na degradação de aminoácidos, alterando a coloração do meio (ARAÚJO JÚNIOR; et al., 2015).

O diagnóstico por imagem poderá ser empregado em caráter complementar. A tomografia computadorizada é utilizada na identificação de lesão encefálica e no acompanhamento da evolução do quadro clínico (SILVA, GAGLIANI; 2014). Radiografia do tórax poderá mostrar também comprometimento pulmonar, embora seja necessário um diagnóstico diferencial, pois a criptococose é radiologicamente semelhante ao quadro de tuberculose (GUTIERREZ *et al.*, 2010; ALMEIDA, 2012; TELLO; *et al.*, 2013).

2.7 TRATAMENTO

De acordo com a Sociedade de Doenças Infecciosas da América (SDIA), por meio da publicação das diretrizes práticas para o gerenciamento da doença criptocócica, o tratamento ainda é feito utilizando Anfotericina B desde 1960, 5-fluorocitosina início dos anos 80 e o fluconazol, com a sua liberação em 1990 (KWON-CHUNG; *et al.*, 2014).

Contudo, alguns fármacos recentemente vêm sendo utilizados como coadjuvante aumentando o arsenal terapêutico como, por exemplo, os fármacos antiprotozoários (cloroquina) e fármacos com ação neurotransmissores (sertralina), que atuam respectivamente inibindo o crescimento de espécies de *Cryptococcus* e contenção da carga fúngica em testes realizados em cultura celular e camundongos (COELHO; CASADEVALL, 2016).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da criptococose comparada a outras doenças infecciosas se tornou um campo desafiador e de grande relevância no mundo científico na área da micologia médica. Pesquisas que investigam mecanismos de ação e os fatores de virulência envolvidos no desenvolvimento da doença e da eficácia dos antifúngicos, juntamente com o comportamento do fungo frente à resposta imune do indivíduo, se tornaram as principais linhas de investigações nos laboratórios de pesquisa.

A dificuldade do tratamento devido à limitação dos fármacos disponíveis e o manejo correto da clínica nas várias fases da doença são devido a outras patologias que se assemelham aos sinais e sintomas da criptococose. Esses fatores dificultam o correto diagnóstico e tratamento que, muitas vezes acontecem de forma tardia ou em fases mais avançadas da doença.

Apesar da grande parcela dos indivíduos sintomáticos serem imunodeprimidos ou imunocomprometidos a capacidade do fungo infectar pacientes

ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA DOS PRINCIPAIS ASPECTOS DA CRIPTOCOCOSE

Maricleia Freitas Rêgo¹; Raudsom Eduardo Rodrigues Fontes²; Wemerson Silva do Nascimento³; Hildene Meneses e Silva⁴

imunocompetentes ainda é uma realidade relevante que precisa de mais esclarecimentos.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, P. A. D. F. et al. The epidemiology of cryptococcosis and the characterization of *Cryptococcus neoformans* isolated in a Brazilian University Hospital. **Rev Inst Med Trop São Paulo**. 2017.

AKRAM, S. M.; KOIRALA, J. Cryptococcus (Cryptococcosis), Cutaneous. **StatPearls - NCBI Bookshelf**. outubro, 2017.

ALMEIDA, F.; WOLF, J. M.; CASADEVALL, A. Virulence-Associated Enzymes of *Cryptococcus neoformans*. **Journals ec. asm. org**. Eukaryot Cell 14:1173–1185. v. 14, n. 12. December 2015.

ALMEIDA, J. C. Perfil clínico –**Epidemiológico da criptococose em pacientes HIV positivos atendidos em uma unidade de referência em Belém do Pará**, Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará, p. 4-75. Belém, 2012.

ALMEIDA, R.L.G.; MACHADO, E. R. *Cryptococcus spp.* em pacientes com HIV/SIDA: Revisão da Literatura. **Ensaio Cienc., Cienc. Biol. Agrar. Saúde**, v. 18, nº 1, p. 55-63. Brasília, 2014.

ANVISA. Detecção e identificação dos fungos de importância médica. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Módulo VII, p. 01-24, 2004.

ARAÚJO J. E. C. et al. Cryptococcus: isolamento ambiental e caracterização bioquímica. **Arq. Bras. Med. Vet. Zotec**. Araçatuba, SP. v.67, n.4, p.1003-1008, 2015.

BACKES, P. et al. Diagnostico laboratorial de *Cryptococcus sp.* no líquido. **RBAC**. v. 48, p 10-14. Florianópolis, 2016.

BIELSKA, E.; MAY, R. C. What makes *Cryptococcus gattii* a pathogen? **Journals investing in scienceFEMS Yeast Research**, v. 16, n. 1. Birmingham, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Vigilância e Epidemiológica Da Criptococose. Unidade de vigilância das doenças de transmissão respiratória e imuno preveníveis. **Rev. Brasília: Ministério da saúde**, p. 03-18, abril, 2012.

ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA DOS PRINCIPAIS ASPECTOS DA CRIPTOCOCOSE

Maricleia Freitas Rêgo¹; Raudsom Eduardo Rodrigues Fontes²; Wemerson Silva do Nascimento³; Hildene Meneses e Silva⁴

CHEN S. C.-A.; MEYER W.; SORRELL, T. C. *Cryptococcus gattii* Infections. **Journals Clinical Microbiology Reviews**. p. 980-1024, v. 27, nº 4. Outubro, 2014.

COELHO, C.; CASADEVALL, A. Cryptococcal therapies and drug targets: the old, the new and the promising Cell. **Rev. Cell Microbiol.**; Author manuscript; available in PMC, July, 31. 2017.

ELLIS, D. H.; PFEIFFER, T. J. Natural Habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. **Journal of Clinical Microbiology**. p. 1642-1644. V.28, n. 7. juiy 1990.

EMMONS, C. W. Saprophytic sources of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columba livia*). **Am J Hyg**, v. 62, n. 3, p. 227–232, 1955. New York, USA. 2018.

GUTIERREZ, E. L. et al. *Cryptococcus gattii* meningoencephalitis in an HIV-negative patient from the Peruvian Andes. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**. v. 43, n. 4. Uberaba July/Aug. 2010.

KHURAIJAM, R. et al. Pancytopenia and cutaneous cryptococcosis as an indicator disease of acquired immune deficiency syndrome. **Indian Journal of Medical Microbiology**. v. 33, p. 439-442. 2015.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. **American Journal of Epidemiology**. v. 120, p. 123-130. July, 1984.

KWON-CHUNG, K. J. et al. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, the Etiologic Agents of Cryptococcosis. **Cold Spring Harb Perspect Med**. p. 1-27. 2014.

LACAZ, C. S. et al. Primary Cutaneo cryptococcosis dueto *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* serotype B, in an immuno competent patient. **Revista do instituto de medicina tropical de São Paulo**, v. 44, n. 4, p. 225–228, 2002.

LI, S. S.; MODY, C. H. *Cryptococcus*. Proceedings of the American Thoracic **Society Journal**, v. 7, n. 3, p. 186–196, 2010.

LIU', J. et al. Calcineurin is a common target of cyclophilin – cyclosporin a and FKBP-FK506 complexes. **Rev. Cell**. v. 66, p. 807-815, august 23, 1991.

MAZIARZ, E. K.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis. **Infectious Disease Clinics of North America, Author manuscript; available in PMC**. v. 30, n. 1, p. 179–206, 2018.

McPHERSON; PINCUS, **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos laboratoriais de Henry**. 21ª Ed. Manole Ltda. São Paulo, 2012.

ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA DOS PRINCIPAIS ASPECTOS DA CRIPTOCOCOSE

Maricleia Freitas Rêgo¹; Raudsom Eduardo Rodrigues Fontes²; Wemerson Silva do Nascimento³; Hildene Meneses e Silva⁴

PARK, B. J. et al. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. **Concise Communication**. v. 23, n. 4, p. 525-530, 2009.

PEDROSO, R. S.; CANDIDO R. C. Diagnóstico Laboratorial da Criptococose. **NewsLab**. ed. 77. 2006.

PERFECT, J. R.; BICANIC, T. Cryptococcosis Diagnosis and Treatment: What Do We Know Now. **Fungal Genet Biol**. p 49–54. Maio, 2016.

PIZANI, A. T.; SANTOS, M. O. Criptococose em pacientes HIV positivos: revisão sistemática da literatura, **Revista Saúde UniToledo**, Araçatuba, SP, v. 01, n. 01, p. 90-106, mar./ago. 2017.

SEVERO, C. B.; GAZZONI, A. F.; SEVERO, L. C. Criptococose pulmonar. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 35, n. 11, 2009.

SILVA, M. A. P.; GAGLIANI, LH. Diagnóstico e prevalência da meningite criptocócica em pacientes portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida – sida. **Revista UNILUS Ensino e Pesquisa**. v. 11, nº. 22. São Paulo, 2014.

TELLO, M. et al. Cryptococcosis. **Rev. Méd. Risaralda**; v. 19, nº 2, p. 147-153. Peru, 2013.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. ARTMED, Porto Alegre, ed. 10º, p. 330-339, 2012.

WAGER, C. M. L. et al. Cryptococcus and Phagocytes: Complex Interactions that Influence Disease Outcome. **Journal Frontiers in Microbiology**. México. v. 7, Article 105, February, 2016.

WANG, J. et al. Primary Cutaneous Cryptococcosis Treated with Debridement and Fluconazole Monotherapy in an Immunosuppressed Patient: A Case Report and Review of the Literature. **Case Reports in Infectious Diseases**. p. 8. Janeiro, 2015.