

Universidade de Brasília  
Faculdade de Medicina  
Núcleo de Medicina Tropical

Waleriano Ferreira de Freitas

Epidemiologia e manejo da criptococose no Distrito Federal,  
Brasil

BRASÍLIA

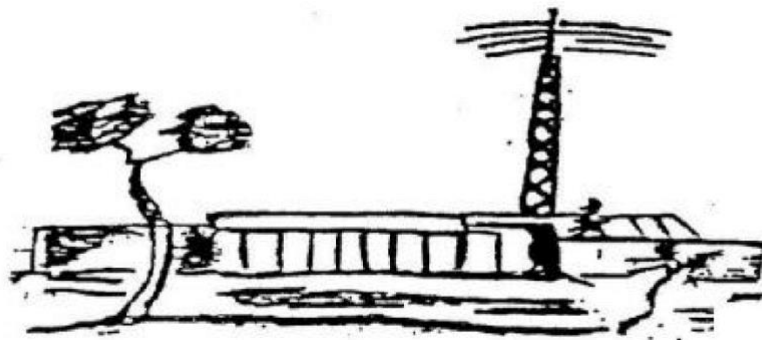
2022

Epidemiologia e manejo da criptococose no Distrito Federal,  
Brasil

Waleriano Ferreira de Freitas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da  
Universidade de Brasília, como requisito parcial para a obtenção do título de  
Doutor em Medicina Tropical. Área de concentração: Clínica das Doenças  
Infecciosas e Parasitárias.

Orientador: Professor Doutor André Moraes Nicola



BRASÍLIA

2022

Fe           Ferreira de Freitas, Waleriano  
              Epidemiologia e manejo da criptococose no Distrito  
Federal, Brasil / Waleriano Ferreira de Freitas; orientador  
André Nicola. -- Brasília, 2022.  
              152 p.

              Tese(Doutorado em Medicina Tropical) -- Universidade de  
Brasília, 2022.

              1. Cryptococcus neoformans. 2. Cryptococcus gattii. 3.  
Criptococose. 4. Aids. I. Nicola, André, orient. II. Título.

DATA DA DEFESA

02 de dezembro de 2022

BANCA EXAMINADORA

Professor Doutor André Moraes Nicola (presidente)

Universidade de Brasília

Professora Doutora Marcela de Faria Ferreira (membro)

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI)/Fiocruz RJ

Professor Doutor Ernane Pires Maciel (membro)

Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde (FEPECS)

Professor Doutor Gustavo Adolfo Sierra Romero (membro)

Universidade de Brasília

Professor Doutor Cleudson Nery de Castro (suplente)

Universidade Católica de Brasília

## **AGRADECIMENTOS**

Ao professor Dr. André Moraes Nicola, orientador, pela paciência, dedicação e atenção durante todo o período do doutorado.

A todos os professores do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília pelos importantes ensinamentos durante esta caminhada.

A todos os funcionários do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília, em especial a secretária de Pós-Graduação Lúcia de Fátima Guedes Martins pela atenção e cuidado incansável no trato com todos que necessitam de auxílio.

Aos colegas da pós-graduação pelo companheirismo e parceria durante toda esta jornada.

Aos meus pais que sempre me ouviram, questionaram, orientaram e compreenderam minhas decisões.

A Cinara Vasques pelo carinho, cuidado, paciência e pela simples presença em minha vida.

## LISTA DE FIGURA

Figura 1 - Distribuição das espécies conforme espécime clínico	57
Figura 2 - Tipo de acometimento segundo gênero	58
Figura 3 - Fatores de mau prognóstico da admissão hospitalar	60
Figura 4 - Distribuição dos antifúngicos utilizados para tratamento	61
Figura 5 - Proporção de pacientes HIV positivos segundo gênero	62
Figura 6 - Distribuição das espécies conforme status HIV	62
Figura 7 - Porcentagem dos casos conforme valores de CD4	63

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Curva de sobrevida em 14 e 70 dias conforme gênero	66
Gráfico 2 - Curva de sobrevida em 14 e 70 dias conforme status HIV. Somente pacientes testados para HIV foram incluídos	67
Gráfico 3 - Curva de sobrevida em 14 e 70 dias entre pacientes com criptococose como doença definidora de imunossupressora pelo HIV	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos pacientes com criptococose	56
Tabela 2 – Diferença entre pacientes HIV positivos e negativos	64



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5-FC	Flucitosina
Aids	Acquired <i>Immune Deficiency Syndrome</i>
AmBC	Anfotericina B complexo lipídico
AmBD	Anfotericina B desoxicolato
AmBL	Anfotericina B lipossomal
ARV	Antirretroviral
C	Cryptococcus
CD4	Linfócitos T CD4
CIM	Concentração Inibitória Mínima
cm	Centímetro
CO	Centro-Oeste
CrAg	Cryptococcal antigen
DF	Distrito Federal
DNA	Deoxyribonucleic acid
DVP	Derivação ventrículo peritoneal
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration
Fluc	Fluconazol
GO	Goiás
GXM	Glucuronoxilomanano
HIC	Hipertensão Intracraniana
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IDSA	Infectious Diseases Society of America
IGESDF	Instituto de Gestão Estratégica de Saúde do Distrito Federal
kg	kilograma
L	Litro
LACEN	Laboratório Central
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LFA	Lateral Flow Assay
mg	miligrama
mm	milímetro
mm <sup>3</sup>	milímetro cúbico
CmH <sub>2</sub> O	centímetros de água
N	Norte
<i>n</i>	Número
NE	Nordeste
NHNT	Não portadores de HIV e Não Transplantados
NI	Não informado
NT	Não tratado
OMS	Organização mundial de saúde
PCDT	Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas
PVHA	Pessoas vivendo com HIV/aids

RCB	Rede Criptococose Brasil
RNA	Ribonucleic Acid
SE	Sudeste
SES	Secretaria de Estado de Saúde
SI	Sem Informação
SIRI	Síndrome inflamatória da reconstituição imune
SNC	Sistema nervoso central
VGII	Variedade <i>gattii</i> II
VNI	Variedade <i>neoformans</i> I
WHO	World <i>Health</i> Organization

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1. EPIDEMIOLOGIA .....</b>	<b>14</b>
<b>1.2. <i>Cryptococcus spp</i>.....</b>	<b>15</b>
<b>1.3. FATORES DE RISCO.....</b>	<b>18</b>
<b>1.4. APRESENTAÇÃO CLÍNICA .....</b>	<b>20</b>
<b>1.5. DIAGNÓSTICO .....</b>	<b>28</b>
<b>1.6. TRATAMENTO .....</b>	<b>34</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>49</b>
<b>3. METODOLOGIA.....</b>	<b>50</b>
<b>3.1. OBJETIVOS .....</b>	<b>50</b>
3.1.1. Objetivo geral.....	50
3.1.2. Objetivos específicos.....	50
<b>3.2. MÉTODOS.....</b>	<b>50</b>
3.2.1. Delineamento.....	50
3.2.2. População de estudo.....	50
3.2.3. Critérios de inclusão .....	51
3.2.4. Descrição dos cenários de estudo/serviços .....	51
3.2.5. Variáveis de interesse .....	51
3.2.6. Fonte e coleta dos dados .....	52
3.2.7. Procedimentos analíticos .....	53
3.2.8. Aspectos éticos.....	53
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>55</b>
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>68</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>85</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>87</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>109</b>
<b>APÊNDICE B .....</b>	<b>110</b>
<b>APÊNDICE C.....</b>	<b>135</b>

## RESUMO

**Introdução:** A criptococose é uma doença infecciosa causada por fungos do gênero *Cryptococcus* spp. reconhecida como importante ameaça à saúde das pessoas portadoras de deficiência da imunidade celular, com quadros potencialmente fatais de meningite em pacientes com aids sendo nesta população, a terceira doença infecciosa oportunista mais prevalente. A América Latina é a terceira região global com mais casos e mortes por criptococose, com uma letalidade intra-hospitalar variando de 30 a 60%. No Brasil, a criptococose é a principal micose sistêmica e oportunista associada a mortes em pacientes com aids. Esta levedura é adquirida via inalatória, podendo causar infecção em animais e humanos, com capacidade de infectar todos os órgãos do corpo, desde a pele, pulmões e SNC. O acometimento neurológico requer reconhecimento precoce e manejo especializado principalmente diante da hipertensão intracraniana. A terapia antifúngica direcionada ao patógeno é realizada com anfotericina B, flucitosina ou fluconazol habitualmente. Medicamentos como corticoides, acetazolamida ou manitol não são adequados para o manejo da hipertensão intracraniana e esta deve ser controlada com drenagem de liquor seja por punção lombar ou derivações liquóricas. **Métodos:** Estudo observacional, analítico, descritivo e retrospectivo do tipo coorte histórica, com objetivo principal de conhecer o perfil epidemiológico dos pacientes com criptococose do Distrito Federal e os determinantes da letalidade na capital federal de 2014 a 2019. Foram utilizados dados secundários extraídos de prontuários de pacientes com criptococose neste período. Os critérios de inclusão estabeleciam pacientes da rede pública de saúde do Distrito Federal do Brasil com qualquer amostra positiva para fungos do gênero *Cryptococcus* spp. O rastreamento dos pacientes foi realizado através de dados obtidos do Laboratório Central de Brasília ou do laboratório do Hospital da Universidade de Brasília. Foram avaliadas variáveis sociodemográficas e clínicas. **Resultados:** Foram avaliados 100 pacientes, com uma média de idade de  $40,1 \pm 17$  anos com a maioria dos pacientes entre 19 e 60 anos. O sexo masculino representou 70% dos pacientes e o *Cryptococcus neoformans* foi a espécie mais prevalente. Já o SNC foi acometido em 89% dos casos e a coinfeção com HIV identificada em 66% dos pacientes do estudo, com marcada imunossupressão como mostra a mediana CD4 de 49 células/mm<sup>3</sup>. O diagnóstico de hipertensão intracraniana ocorreu em 41% dos participantes com mediana da pressão de abertura de 33,5 cm H<sub>2</sub>O, porém a pressão de abertura não foi avaliada em 44% dos pacientes. A letalidade em 2 e 10 semanas foi de 26,9% e 38,7% respectivamente. **Conclusão:** A criptococose representa um grande desafio para a saúde pública visto os custos no manejo, o acometimento prioritário de pessoas em idade produtiva, lapso de conhecimento dos profissionais quanto ao diagnóstico e tratamento da criptococose e suas complicações. Palavras – chaves: criptococose; meningite; aids.

Epidemiology and management of cryptococcosis in the Federal District,  
Brazil

**ABSTRACT**

**Introduction:** Cryptococcosis is an infectious disease caused by fungi of the genus *Cryptococcus* spp. recognized as an important threat to the health of people with cellular immunity deficiency, with potentially fatal cases of meningitis in aids patients being in this population, the third most opportunistic infectious disease prevalent. Latin America is the third global region with the most cases and deaths from cryptococcosis, with an in-hospital case fatality ranging from 30 to 60%. In Brazil, cryptococcosis is the main systemic and opportunistic mycosis associated with deaths in aids patients. This yeast is acquired via inhalation and can cause infection in animals and humans, with the ability to infect all organs of the body, from the skin, lungs, and CNS. Neurological involvement requires early recognition and specialized management, especially in the face of intracranial hypertension. Antifungal therapy directed at the pathogen is usually performed with amphotericin B, 5-flucytosine, or fluconazole. Medications such as corticosteroids, acetazolamide or mannitol are not suitable for the management of intracranial hypertension, and this must be controlled with CSF drainage either by lumbar puncture or CSF shunts. **Methods:** Observational, analytical, descriptive, and retrospective study of the historical cohort type, with the main objective of knowing the epidemiological profile of patients with cryptococcosis in the Federal District and the determinants of lethality in the federal capital from 2014 to 2019. Secondary data extracted from medical records were used. of patients with cryptococcosis in this period. The inclusion criteria established patients from the public health system of the Federal District of Brazil with any positive sample for fungi of the genus *Cryptococcus* spp. Patient screening was performed using data obtained from the Central Laboratory of Brasília or from the laboratory of the University Hospital of Brasília. Sociodemographic and clinical variables were evaluated. **Results:** 100 patients were evaluated, with a mean age of  $40.1 \pm 17$  years, with most patients between 19 and 60 years. Males represented 70% of patients and *Cryptococcus neoformans* was the most prevalent species. The CNS was affected in 89% of the cases and co-infection with HIV was identified in 66% of the patients in the study, with marked immunosuppression as shown by the median CD4 of 49 cells/mm<sup>3</sup>. The diagnosis of intracranial hypertension occurred in 41% of the participants with a median opening pressure of 33.5 cm H<sub>2</sub>O, however the opening pressure was not evaluated in 44% of the patients. Lethality at 2 and 10 weeks was 26.9% and 38.7%, respectively. **Conclusion:** Cryptococcosis represents a major challenge for public health, given the costs of management, the priority involvement of people of working age, lack of knowledge of professionals regarding the diagnosis and treatment of cryptococcosis and its complications. **Keywords:** cryptococcosis; meningitis; aids

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. EPIDEMIOLOGIA

A criptococose é uma doença infecciosa causada por um fungo identificado em 1894, entretanto, apenas após o advento da epidemia da síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) no início da década de 1980 é que foi reconhecida como um importante ameaça a saúde das pessoas portadoras de imunodeficiência celular sendo potencialmente fatal em quadros não tratados de meningite e considerada doença definidora desde 1993 em paciente com HIV. É a terceira doença infecciosa oportunista mais prevalente em indivíduos portadores da aids, além da mais importante micose sistêmica nesta população e não está na lista de doenças tropicais negligenciadas da organização mundial de saúde (OMS). (Gullo, 2013; Wiesner, 2011, Alves Soares, 2019, Boyer-Chammard, 2019).

Dados de 2014 estimavam a incidência global de meningite criptocócica em 223.100 casos, destes 73% na África Subsaariana (Herkert, 2017), resultando em 181.100 mortes. A criptococose é a principal causa de meningite em adultos com aids na África, representando 20% a 25% das mortes em todo o continente e 15% das mortes globais relacionadas à aids até 2014 (Durski, 2013; Rajasingham, 2017; Williams, 2015).

A mortalidade estimada em um ano em pacientes com aids e meningite criptocócica em países pobres é de até 70% e nos países ricos de 20 a 30% (WHO, 2018). A meningite criptocócica está relacionada até 19% mortalidade mundial ligada à aids, além de ser a principal causa de meningite em adultos na África subsaariana (Meya, 2016; Rajasingham, 2022).

A América Latina é a terceira região global com mais casos e mortes por criptococose, com a letalidade intra-hospitalar destes casos variando

entre 30 e 60 %. Nesta região a meningite criptocócica é a segunda mais comum doença neurológica oportunista em pacientes com HIV atrás da toxoplasmose cerebral (Vidal, 2020; Firacative, 2018).

No Brasil, dentre a micoses sistêmicas e oportunistas, a criptococose é a principal causa associada à morte nos pacientes com aids no atestado de óbito. No período de 1998 a 2006, das 5.898 mortes notificadas em pacientes com aids associada a algum tipo de micose, 3001 mencionavam criptococose (Musubire, 2013).

Cerca de 6% dos casos de aids no Brasil têm o diagnóstico de criptococose na época do diagnóstico desta imunodeficiência (Prado, 2009), isto é, comportando-se como doença definidora. O impacto da criptococose na aids no Brasil se reflete nos dados de necropsia com presença desta micose em achados de necropsias variando de 12 a 15.8% na região sudoeste (Silva, 2012; Prado, 2009; Pappalardo, 2003; Chimelli, 1993).

Como a criptococose não é de notificação obrigatória no Brasil, a mortalidade real é desconhecida. Dados recentes mostram que no período de 2000 a 2012 dos 4314 óbitos por criptococose associados a aids, 71.5% eram homens, com aqueles com idade entre 20 e 59 anos representando 95,8% de todos estes óbitos (Alves- Soares, 2019).

Neste estudo, a meningite criptocócica foi a segunda causa de óbito mais frequente entre as mortes por meningite com causa definida, ficando atrás apenas da doença meningocócica e em relação a mortalidade por micoses sistêmicas, a criptococose é a segunda causa de morte no Brasil e a mais frequente micose sistêmica nos pacientes com aids, assumindo um papel oportunista. A letalidade no Brasil varia de 30 a 63 %, independente de fatores de risco, dominando a associação com aids (Alves- Soares, 2019; Vidal, 2013).

## 1.2. Cryptococcus spp

O gênero *Cryptococcus* spp. é composto por leveduras saprófitas encapsuladas dispersas no ambiente, intracelulares facultativas, encontradas preferencialmente em locais úmidos, podendo sobreviver nos mamíferos nos tecidos e fluídos ou dentro de células fagocíticas. Apresenta cerca de 70 espécies, dentre estas *C. neoformans* e *C. gattii*, sabidamente patogênicas (Araújo Junior, 2015; Srikanta, 2014).

Diferentemente da maioria dos fungos patogênicos aos humanos que são ascomicetos, as leveduras dos *Cryptococcus* spp. são basidiomicetos, com crescimento altamente dependente de oxigênio devido ao metabolismo respiratório, além de apresentar uma cápsula envolvendo a célula (Zaragoza, 2019; Silva 2012).

*Cryptococcus* spp. podem ser divididos em dois complexos de espécies (*C. neoformans* e *C. gattii*) e cada complexo de espécies em tipos moleculares diferentes. As espécies de *C. neoformans* são aptas a colonizar a mucosa do papo dos pombos sem causar doença, servindo as fezes das aves como fonte nutritiva para estes fungos. São amplamente distribuídos no Brasil e os mais prevalentes no sul e sudeste do país, entretanto, a determinação da incidência desta micose é difícil diante da falta de notificação compulsória no país (Correa pinheiro, 2019).

Estes fungos permanecem no ambiente de forma viável, permitindo sua disseminação pelo vento até outras excretas de aves presentes no solo como fezes de psitacídeos, passeriformes, morcegos, columbiformes e falconiformes (May, 2016; Araújo junior, 2015; Bernal-Martinez, 2020; Diaz, 2020).

Já *C. gattii* são habitualmente isolados de plantas de regiões tropicais e subtropicais. Várias espécies de árvores podem ser reservatórios para estas espécies, não ocorrendo assim relação espécie-árvore, encontrando-se com grande distribuição no meio ambiente, independentemente do local ou período do ano (Araújo junior, 2015; Herkert, 2017; Diaz, 2020). Tanto o *C. gattii* quanto *C. neoformans* são produtores de lacase, o que favorece a



colonização de madeira, principalmente em decomposição (Araújo Junior, 2015).

A carga exata da doença criptocócica ligada ao *C. gattii* não pode ser adequadamente avaliada diante da grande subnotificação desta infecção e da limitada capacidade dos laboratórios dos países baixa renda em diferenciar as espécies de *Cryptococcus* spp. (Herkert, 2017; Sloan, 2014).

A presença do *Cryptococcus gattii* em distintas regiões do globo pode sugerir que sua distribuição foi subestimada ou que está expandindo, podendo guardar relação com mudanças climáticas, alteração o uso da terra e a exploração de madeira (Sloan, 2014).

No Brasil há maior prevalência do *C. gattii* no norte e nordeste, com a região amazônica endêmica para esta espécie, mas também presente em ambientes urbanos, em árvores, casas de madeira em torno da cidade e no semiárido nordestino, já *C. neoformans* está mais presente no sul e sudeste do país (Alves- Soares, 2019; Correa pinheiro, 2019).

Entretanto, diante da interiorização da epidemia da aids no Brasil, com a intensiva mobilidade da população para novas fronteiras agrícolas tem se notado o aumento da criptococose nestas regiões de expansão (Alves- Soares, 2019).

Certas características desta levedura permitem a ela sobreviver no hospedeiro, como a cápsula de polissacarídeo, provavelmente o principal fator de virulência deste agente, responsável pela fuga da fagocitose (Corti, 2014), a presença de melanina na parede celular produzida pelas catecolaminas obtidas do hospedeiro, o que pode explicar o grande envolvimento do sistema nervoso central (SNC), a capacidade de crescer à temperatura fisiológica de 37 ° C e a produção de enzimas como a lacase do *C. neoformans* que são capazes de converter L-dopa em melanina, resultando em maior resistência à anfotericina B e possivelmente ao fluconazol, um agente fungistático (Chen, 2014; Warkentien 2010; Franco-Paredes, 2015; ; Coelho, 2016; Grossman, 2017).

Apesar da cápsula criptocócica ser fundamental na virulência do fungo, ela não é crucial para a sobrevivência desta levedura visto a existência de mutantes acapsulares com baixa virulência (Zaragoza, 2019; Coelho, 2016). No *C. gattii* esta cápsula pode ser responsável pela maior morbidade relacionada a esta espécie, visto o tamanho de sua cápsula polissacarídica, maior capacidade de melanização e produção de fosfolipase, levando a uma resposta aparentemente mais lenta ao tratamento (Nascimento, 2016).

Esta infecção é adquirida pela inalação de propágulos presentes no ambiente compostos por leveduras desidratadas, com dimensão menor que 2 mm, que são facilmente aerossolizadas e amplamente encontradas no ambiente, não sendo uma doença transmitida entre humanos (Filiú, 2002; Srikanta, 2014, Diaz, 2020).

No corpo, os esporos desenvolvem uma cápsula externa espessa capaz de resistir a ação do sistema imunológico, multiplicando-se por brotamento, com disseminação hematogênica livremente ou dentro de fagócitos ou monócitos até áreas distantes como o SNC (Diaz, 2020).

A disseminação dos *Cryptococcus* spp. para o SNC pode ocorrer após as células criptocócicas se ligarem ao lado externo da barreira hematoencefálica e serem endocitadas pelas células endoteliais ou após dano as junções estreitas da barreira hematoencefálica cruzando entre as células endoteliais ou passando pela barreira dentro de células fagocíticas (Zaragoza, 2019).

### 1.3. FATORES DE RISCO

A maioria dos pacientes com criptococose apresentam alguma deficiência da imunidade celular (Sloan, 2014; Kim, 2016). Estes fungos do complexo *Cryptococcus neoformans* causam infecções oportunistas nos pulmões e SNC em imunossuprimidos com câncer, diabetes mellitus, aids e transplantados. Nestes pacientes imunocomprometidos, uma caminhada ou

acampamento em local de árvores infectadas pode resultar em doença sintomática (Diaz, 2020; Prattes, 2016).

Três categorias de indivíduos têm potencial para desenvolvem criptococose, dentre estes estão os portadores de HIV com doença avançada, os transplantados e aqueles não HIV/não transplantados, ou seja, sem um evidente distúrbio imunológico (Coelho, 2016). A Criptococose antes do HIV era uma doença incomum de pacientes imunossuprimidos como transplantados, portadores de câncer hematológico e usuários crônicos de corticoides ou outros imunossupressores (Nguyen, 2010).

Entretanto, com o advento da aids na década de 1980, ocorreu um importante aumento da criptococose no mundo, porém a introdução da terapia antirretroviral (ARV) vem reduzindo o número de casos desta infecção fúngica nesta população. Apesar do aumento do uso da terapia antirretroviral contra o HIV, persiste ainda o diagnóstico tardio desta condição, o que propicia o surgimento de infecções oportunistas como a criptococose diante da imunossupressão avançada, principalmente contagem de linfócitos T CD4 (CD4) abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup> (Meya, 2016).

Mais recentemente, a criptococose vem aumentando na população de imunossuprimidos não portadores de HIV visto a maior sobrevivência desta população em uso de imunossupressores por tempo prolongado (Coelho, 2016; Nguyen, 2010).

Assim, tem se observado uma elevação no reconhecimento de casos de meningite tuberculosa e criptocócica em portadores de doenças reumatológicas e usuários de terapias supressivas, com estas duas infecções sendo as mais comuns meningites crônicas infecciosas, além de possuírem apresentações e achados laboratoriais muito próximos (Qu, 2017).

Apesar de habitualmente ser uma infecção associada a estados de imunodeficiência como a aids e outras condições imunossupressoras como transplantes, lúpus eritematoso sistêmico, cirrose hepática e neoplasia, rotineiramente o diagnóstico nestes pacientes não portadores do HIV é

realizado de forma tardia ou não realizado a tempo para intervenções, refletindo em desfechos desfavoráveis nesta população (Motoa, 2020).

Pacientes com criptococose não portadores de HIV são considerados de alto risco para mortalidade em países de alta renda visto o diagnóstico tardio desta infecção fúngica, mas também pelas condições subjacentes não habitualmente relacionadas a fatores de risco para criptococose como idade avançada, comorbidades graves, impossibilidade de reversão da imunossupressão (Perfect, 2015, Motoa, 2020).

Em mulheres com criptococose, a história de lúpus ou doenças autoimunes foram fatores de risco clínico que contribuíram independentemente para o começo da doença, devendo ser dada a devida atenção a mulheres com estas condições clínicas para a possibilidade de criptococose, não sendo o gênero um fator de risco isolado (Zheng, 2016).

A criptococose é a terceira infecção fúngica invasiva mais prevalente em pacientes transplantados de órgãos sólidos, atrás de *Candida sp* e *Aspergillus sp*, com tempo médio para reativação da criptococose de aproximadamente 20 meses após a cirurgia, mas raramente é adquirida do tecido do doador, podendo ser suspeitada esta condição em situações da ocorrência da criptococose dentro dos 30 primeiros dias após transplante, ou quando ocorre no local do enxerto cirúrgico ou em receptores de múltiplos órgãos do mesmo doador (Sloan, 2014).

#### 1.4. APRESENTAÇÃO CLÍNICA

Os fungos do gênero *Cryptococcus spp.* são leveduras adquiridas por inalação, tendo duas principais espécies envolvidas, *C. neoformans*, com sua variedade VNI responsável por mais de 80% das doenças criptocócicas no mundo e *C. gattii*, habitualmente em indivíduos imunocompetentes. Entretanto, a presença de *C. gattii* é possivelmente subestimada visto que muitos laboratórios não realizam a correta identificação das espécies (Sloan, 2014).

Estes fungos são capazes de causar infecção em animais e humanos, podendo infectar quase todos os órgãos do corpo, desde o pulmão até a pele, com efeito mais deletério no SNC. Algumas espécies emergentes (*C. albidus*, *C. laurentii*, *C. uniguttulatus*) começam a ser notadas possivelmente devido ao aumento de pacientes imunossuprimidos potencialmente mais susceptíveis. (Bernal-Martinez, 2020; Silva, 2012; Zheng, 2016).

Na região amazônica a presença deste fungo nas proximidades de áreas urbanas pode levar a grande ocorrência desta infecção em crianças e nativos imunocompetentes, visto que o acometimento pulmonar inicial possivelmente ocorre por volta dos 5 anos de idade, tendo os adultos um granuloma de *Cryptococcus* spp. em seus pulmões, mas a apresentação pulmonar é subdiagnosticada e menos clinicamente aparente que o acometimento do sistema nervoso central (Correa Pinheiro, 2019; Zafar, 2019; Nguyen, 2010)

*C. gattii* é reconhecido como patógeno primário, endêmico ou epidêmico, causando doença pulmonar ou disseminada em indivíduos sem evidência de imunossupressão em áreas tropicais, subtropicais e com recente expansão para áreas temperadas (Chen, 2014; Lindsley, 2011).

Apresenta aparente maior predisposição para invadir SNC que o *C. neoformans*, levando a lesões com efeito de massa locais, hidrocefalia, paralisia de pares cranianos, além de resultar em sequelas neurológicas, fora a pobre e lenta resposta aos antifúngicos, estando esta espécie possivelmente mais ligada ao SNC devido a exposição ambiental elevada e não por maior tropismo. (Nguyen, 2010; Silva 2012).

Já *C. neoformans* é um agente oportunista e cosmopolita, ocorrendo principalmente associada à aids e outras condições de deficiência da imunidade celular como leucemias, linfomas, diabetes e imunossupressão pós-transplante (Prattes, 2016).

Diante da ampla distribuição dos fungos do gênero *Cryptococcus* spp. no ambiente, há evidências que a exposição humana seja comum a este agente, porém a grande maioria dos casos é assintomática, com o agente contido em granulomas no pulmão quando o paciente apresenta uma resposta imune celular adequada, o contrário ocorre com disseminação do agente infeccioso, com possibilidade de causar uma meningoencefalite que associada a aumento da pressão intracraniana eleva a mortalidade (Scriven, 2017).

A criptococose pulmonar é comumente observada em pacientes imunocomprometidos e tornou-se uma doença emergente em pacientes imunocompetentes. O acometimento pulmonar isolado tende a ser mais comum em pacientes imunocompetentes, com os nódulos pulmonares uma manifestação radiológica comum nestes casos (May,2016; Setianingrum, 2019).

Quando da infecção pulmonar, os fungos podem colonizar o trato respiratório e diante de uma resposta TH1 adequada ocorre um controle da infecção e estabelecimento de granulomas mantendo a infecção latente em pessoas sem alteração do estado imunológico, assim, quando da evolução da imunossupressão, com mudança da resposta de TH1 para TH2, como ocorre em pacientes soropositivos, pode ocorrer a disseminação hematogênica do agente infeccioso do pulmão para outros órgãos (Kwon-Chung, 2014). Entretanto, mais de 50% dos pacientes com criptococose pulmonar não apresentam fatores de risco evidentes ou distúrbio imunológico identificado (May,2016; Setianingrum, 2019).

A pneumonia criptocócica é subdiagnosticada, apesar da entrada do agente infeccioso pelas vias aéreas, com até um terço destes pacientes assintomáticos, com as principais alterações radiográficas, nos imunocompetentes, os nódulos periféricos únicos ou múltiplos. Nos pacientes sintomáticos respiratórios pode ocorrer remissão das lesões pulmonares

mesmo sem tratamento, apesar de demorar anos (1 a 2 anos na maioria dos casos), entretanto, este processo pode ser acelerado com tratamento antifúngico adequado, com esta terapia sendo efetiva na resolução completa ou parcial das lesões dos pacientes com criptococose pulmonar assintomáticos (Fisher, 2017).

A criptococose pulmonar pode apresentar sintomas inespecíficos levando ao atraso do diagnóstico, terapia inadequada e possível disseminação da infecção. Em pessoas não portadoras de HIV e não transplantados (NHNT) verificou-se a presença de doenças pulmonares mais limitadas, porém com atraso no diagnóstico e com mortalidade mais alta do que em pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA) e transplantados. Neste contexto, os pacientes NHNT e transplantados parecem mais propensos a criptococose pulmonar e sintomas respiratórios que PVHA (Setianingrum, 2019; Hevey, 2019).

A meningite criptocócica é a mais comum manifestação da criptococose representando até 80% dos casos (Liu, 2019), podendo ser uma manifestação incomum em pacientes imunocompetentes. Nos pacientes com AIDS, a meningite se manifesta em até 90% dos casos de coinfeção com uma evolução subaguda de cerca de 2 a 4 semanas, com menor resposta inflamatória, elevada carga fúngica e poucas lesões com efeito de massa, entretanto, também faz parte do espectro das meningites crônica, ou seja, aquelas com pelo menos 4 semanas de evolução (Graybill, 2000; Pappalardo, 2003; Thakur, 2018).

Em 2000, Graybill constatou que a maioria dos pacientes com papiledema, perda auditiva, alterações visuais e elevada carga fúngica líquorica apresentavam uma pressão de abertura líquorica superior a 350 cmH<sub>2</sub>O mostrando a elevada hipertensão intracraniana. As manifestações mais comumente observadas na meningite criptocócica são a hipertensão intracraniana, cefaleia, papiledema, sinais neurológicos focais, convulsões,

coma, náuseas, vômitos, alterações visuais, auditivas, memória, do nível de consciência e da personalidade, com a alteração mental associada a elevada mortalidade (Graybill, 2000; Liu, 2019; Sloan, 2014).

Apesar de sinais e sintomas de hipertensão intracraniana serem comuns em pacientes com elevadas pressões, alguns pacientes podem apresentar importante aumento da pressão intracraniana sem claras manifestações e o não reconhecimento desta condição pode resultar em falha no tratamento clínico e óbito (Nguyen, 2010; Graybill, 2000; Wu, 2019).

As infecções por *C. gattii* com envolvimento do SNC tendem a causar mais hidrocefalia, papiledema, ataxia, hipoacusia, alterações mentais e sequelas neurológicas, geralmente com pressões intracranianas mais elevadas, com resposta ruim a punções lombares de controle e derivações liquóricas, nas infecções por esta espécie em mais de 50 % dos casos os pulmões também estão envolvidos (Herkert, 2017; Sloan, 2014).

A presença de criptococomas, lesões de pelo menos 1 cm de diâmetro, é mais comum em pacientes com *C. gattii* e necessitam de um tempo prolongado de terapia visto a lenta resposta, baixa penetração das drogas no criptococoma, além do CIM para azóis mais elevados para esta espécie, assim como presença de sequelas clínicas mais comumente observadas nestes pacientes, como cegueira e a hidrocefalia. (Herkert, 2017; Sloan, 2014).

Apesar do envolvimento do SNC ser a principal forma de apresentação da criptococose, sinais clássicos de meningismo, como rigidez de nuca, costumam estar presentes em menos de 20 % dos pacientes. Até 40% dos pacientes com meningite criptocócica apresentam envolvimento ocular, se manifestando como papiledema e uveíte (Sloan, 2014).

Estes fungos causam obstrução mecânica do fluxo de líquido pelo bloqueio da drenagem através das vilosidades aracnoides além de levar ao



acúmulo de polissacarídeos neste espaço o que pode ser responsável pelo aumento da osmolaridade do líquido e do fluido intersticial colaborando para o acúmulo e retenção de líquido no SNC, levando a uma elevação da pressão intracraniana por este aumento da permeabilidade vascular associado a edema cerebral ligada a inflamação induzida por citocinas e entupimento destas vilosidades aracnoides pelo *Cryptococcus* spp. (Corti, 2014; de Vedia, 2013).

Demonstrou-se que a pressão basal elevada do líquido esta ligada a altos títulos do antígeno criptocócica, elevada possibilidade de tinta da china positiva e maior frequência de cefaleia e comprometimento neurológico e a ausência de controle desta hipertensão está associada a herniação (Corti, 2014; de Vedia, 2013; Yuchong, 2011).

Nguyen demonstrou que a HIC foi mais provável em pacientes portadores do HIV e em não imunossuprimidos que na população de imunossuprimidos por outras causas fora o HIV. As lesões com efeito de massa foram menos comuns nos pacientes com HIV quando comparados aos pacientes imunossuprimidos ou não imunossuprimidos, com maior mortalidade nos pacientes sem alteração aparente de imunidade, seguidos de imunossuprimidos e depois portadores de HIV (Nguyen, 2010).

A falta de adequada resposta imune no líquido associada a elevada carga fúngica em pacientes com aids e meningite criptocócica é possivelmente relacionada a elevada pressão intracraniana que ocorre em cerca de 50% destes pacientes, tornando o manejo desta condição essencial para reduzir mortalidade e morbidade nestes pacientes (de Vedia, 2013).

Os criptocomas são lesões circunscritas observadas na tomografia computadorizada, maiores que 1 cm de diâmetro, ocorrendo no SNC com ou sem meningite, associada frequentemente a pacientes imunocompetentes e infectados com *C. gattii*, seguindo nas infecções pulmonares estas mesmas

características como evidenciado em um estudo na Austrália, mas com doença pulmonar sendo incomum nos pacientes com aids (Chen, 2000).

Uma manifestação clínica ligada à criptococose em pacientes com HIV é a síndrome inflamatória da reconstituição imune (SIRI) que pode se manifestar de forma paradoxal, também conhecida como clássica, em que os pacientes apresentam melhora clínica com terapia antifúngica, seguida deterioração após a introdução da ARV com consequente restauração imunológica, ocorrendo cerca de 1 a 2 meses após a introdução da terapia contra o HIV em até 6 a 45% destes pacientes ( Boyer-Chammard, 2019; Longley, 2013; Meya, 2016).

Já a SIRI desmascarada ocorre nos pacientes que iniciam a ARV e apresentam um quadro de criptococose à medida que ocorre a melhora da imunidade. Possivelmente, a débil resposta imune inicial e a incapacidade de clearance do antígeno criptocócico (CrAg) antes da ARV, permitia uma apresentação subclínica da criptococose, porém a restauração da imunidade e da contagem de células T CD4, com liberação das citocinas desencadeiam uma inflamação intracraniana importante. Porém, manifestação das duas condições é semelhante, com presença de cefaleia, HIC, linfadenites, lesões pulmonares, acidente vascular cerebral isquêmico, lesões em ossos e partes moles (Wu, 2019; Boyer-Chammard, 2019; Longley, 2013; Meya, 2016).

As manifestações cutâneas representam a terceira forma mais comum da criptococose, com lesões polimórficas praticamente indistinguíveis de outros quadros infecciosos, tornando o diagnóstico bastante difícil, necessitando da cultura ou do exame histopatológico de fragmento da lesão indispensáveis para tal finalidade. Diante da raridade da forma primária da criptococose, normalmente associada a inoculação direta, habitualmente a criptococose cutânea tende a ser um alerta de uma doença disseminada e da necessidade de maior investigação (Maziarz,2016; Carrasco-Zuber, 2016).

O polimorfismo da criptococose cutânea varia de apresentações semelhantes a celulites bacterianas até quadros similares a pioderma gangrenoso, lesões acneiformes, nódulos, vesículas, pústulas, tumor, granulomas, úlceras, edemas subcutâneos, placas, lesões acneiformes, lesões herpéticas, molusco contagioso habitualmente presentes na cabeça e pescoço, porém podem estar presentes em outras partes do corpo. A apresentação em forma de celulite é mais comum em pacientes imunocomprometidos, estando associada mais a doença disseminada, com elevada prevalência de antígeno criptocócico positivo no soro do paciente (Christianson, 2003; Carrasco-Zumber, 2016; Noguchi, 2019).

A infecção por *Cryptococcus* spp. cutânea pode ser classificada como lesão cutânea localizada ou como manifestação cutânea de uma criptococose disseminada. Outra maneira de classificação, seria a forma cutânea primária após inoculação traumática do fungo ou criptococose cutânea secundária, fruto da disseminação hematogênica do fungo principalmente dos pulmões levando a lesões cutâneas em até 5 a 15% dos casos (Noguchi, 2019).

A forma localizada da criptococose cutânea está restrita a uma parte limitada da pele, de forma independente da rota de infecção, não estando associada a fungemia e nem a antigenemia pelo glucuronoxilomanano (GXM) e são lesões raras. Fatores associados a criptococose cutânea secundária à disseminação foram a infecção pelo HIV, corticosteroides sistêmicos, neoplasias hematológicas, transplantados, quimioterapia para câncer, sarcoidose, diabetes mellitus, cirrose, linfocitopenia CD4+. Nos pacientes com HIV, até 6% dos pacientes com criptococose disseminada têm manifestações cutâneas (Noguchi, 2019).

Já criptococose disseminada pode ser definida como o envolvimento de dois ou mais locais do corpo, como a presença do agente infeccioso na pele ou sítios habitualmente estéreis como sangue e líquido cefalorraquidiano (LCR) e este fato guarda relação com os desfechos do paciente, necessitando

de um manejo precoce e agressivo assim como nos pacientes com meningite, o que se associado a menores taxas de complicações e melhores resultados. Estas apresentações menos comuns da criptococose como pneumonia sem meningite, infecções de pele e partes moles são mais comuns em pacientes não HIV (Spec, 2017; Sloan, 2014; George, 2018).

## 1.5. DIAGNÓSTICO

Em 2011 a organização mundial de saúde (OMS) lançou suas diretrizes para diagnóstico, tratamento e seguimento dos pacientes com esta infecção. Um aspecto crucial dessas diretrizes é o diagnóstico precoce e rápido por meio de exame imunocromatográfico de fluxo lateral (LFA) que utiliza o antígeno criptocócico (CrAg). Este é um teste rápido para detecção de antígeno capsular do fungo nos fluídos corporais (sangue, soro, plasma, urina, líquido), estável em temperatura ambiente, de baixo custo, podendo ser realizado por pessoas minimamente treinadas, sem necessidade de infraestrutura laboratorial, rápido e com elevada sensibilidade e especificidade (Kim, 2016; Prattes, 2016; Kabanda, 2014).

Uma revisão em 2020 para diagnóstico de doenças fúngicas invasivas, definiu critérios para infecção provada por *Cryptococcus* spp. resultado histopatológico, citopatológico ou exame microscópico direto de espécimes obtidos de sítios normalmente estéril ou cultura ou teste rápido de materiais de sítios estéreis como sangue ou líquido (Donnelly, 2020).

Para o diagnóstico de meningite criptocócica, o CrAg LFA possui sensibilidade de 99,3% e especificidade de 99,1% no líquido, assim a testagem dos pacientes deveria ser empregada em todos os pacientes com meningite e HIV ou pelo menos naqueles com tinta Nanquim negativo ou com condições neurológicas que impossibilitam a punção lombar (Trachtenberg, 2007; Skipper, 2019). O CrAg LFA pode ser realizado em outros espécimes a beira leito, como plasma, sangue ou soro, mostrando elevada sensibilidade (Vidal, 2015)

CrAg LFA no líquido é altamente sensível e específico para meningite criptocócica, além do fato de elevados títulos do CrAg neste espécime ter correlação com a carga fúngica e associação com mortalidade em 2 e 10 semanas, servindo como uma importante ferramenta adicional para avaliação do prognóstico do paciente e aconselhamento dos profissionais quanto ao risco de óbito do paciente (Trachtenberg, 2007; Kabanda, 2014).

Desta maneira, o CrAg LFA no líquido é uma opção confiável para confirmar ou excluir meningite em pacientes com o mesmo teste positivo no sangue e diante da elevada sensibilidade do CrAg existe a possibilidade do resultado no líquido ser positivo quando a carga fúngica é baixa, enquanto a cultura e pesquisa de fungos iniciais são negativas, como citado em alguns estudos (Kabanda, 2014).

Para criptococose, temos três formas de detecção do CrAg: teste de aglutinação em látex, imunoenensaio enzimático e imunoenensaio de fluxo lateral, os quais são rápidos, sensíveis e específicos, entretanto, sem padronização para escarro, líquido pleural e lavado broncoalveolar. O diagnóstico de formas fora do SNC deve levar a investigação deste sítio se ainda não realizada visando descartar o acometimento neurológico (Song, 2020).

Entretanto, deve-se destacar que o teste de antígeno criptocócico no soro ou líquido cefalorraquidiano, assim como a microscopia não são capazes de diferenciar entre *C. neoformans* ou *gattii*, podendo esta diferenciação ser realizada por biologia molecular por exemplo (Diaz, 2020).

Em pacientes imunossuprimidos, a meningite criptocócica se apresenta com grande quantidade de leveduras no líquido, com baixa contagem de linfócitos na leptomeninge devido a baixa resposta inflamatória no SNC, mas rico em catecolaminas, as quais favorecem o crescimento do *Cryptococcus* spp. Nos pacientes com HIC a grande quantidade de leveduras no líquido é responsável pelos grandes títulos do antígeno polissacarídeo e a alta positividade da pesquisa direta com tinta Nanquim (de Vedia, 2013).

Em cenários em que há dificuldade de acesso a ARV ou entre pacientes com HIV que abandonam esta terapia, a meningite criptocócica

continua sendo uma ameaça. Para o diagnóstico do acometimento do SNC amostras líquóricas são requeridas para avaliação da cultura, padrão ouro que requer entre 7 a 14 dias para obtenção de resultados positivos além de ser a única maneira de se determinar a espécie, tinta nanquim, um método rápido, pouco dispendioso, entretanto com baixa sensibilidade (86% nas mãos de especialistas e 42% no início da infecção quando a carga fúngica é menor) e teste do antígeno criptocócico, o qual possui elevada sensibilidade e especificidade (Rajasingham, 2019).

Esta ferramenta possibilita um diagnóstico rápido, reconhecimento da infecção e a instituição do tratamento mesmo antes do paciente apresentar sintomas característicos de meningoencefalite, além de permitir avaliar a prevalência da infecção na população, com a antigenemia criptocócica em pessoas assintomáticas com HIV avançado variando de 1 a 15% e sua positividade funcionando como um preditor de meningite e óbito (Abassi, 2015; Rajasingham, 2019).

Assim, a instituição do CrAg LFA antes da punção lombar, permite identificar quais pacientes devem ser submetidos a aferição da pressão de abertura do líquido e conseqüente manejo adequado da hipertensão intracraniana, já que estudos prévios encontraram significativa melhora da letalidade aguda quando estes pacientes foram submetidos a pelo menos uma punção lombar para controle da pressão elevada, tornando o controle da HIC fundamental para melhorar a sobrevivência, seja por punções terapêuticas de alívio ou cirúrgica (Jarvis, 2011; Boulware, 2014; Hu, 2017).

Além do uso diagnóstico, estudos recentes mostram custo-efetividade do CrAg LFA para triagem da criptococose em pacientes com aids e contagem de linfócitos CD4 inferior a 100 células/mm<sup>3</sup> em cenários em que a prevalência da antigenemia criptocócica seja superior a 3% como a África subsaariana. No Brasil, a positividade da antigenemia tem variado de 2,6% a 11,2% (Costa, 2013; Ferreira, 2020). O CrAg no sangue periférico pode preceder os sintomas da meningite criptocócica em média em 22 dias tornando esta ferramenta de grande importância na prática clínica. (Rolfes, 2014; Sawadogo, 2016).

No entanto, deve-se ter em mente que testes como CrAg qualitativo e tinta Nanquim não são úteis para diagnósticos subsequentes de meningite criptocócica, pois podem manter-se positivos por meses ou anos, assim apenas a cultura novamente positiva no líquido é capaz de definir recaída ou falha ao tratamento (Rajasingham, 2012; Govender, 2013).

Importante destacar que os títulos de CrAg não são comparáveis entre fabricantes, e à medida que os títulos aumentam, a probabilidade de acometimento do SNC se eleva tornando-se praticamente universal com títulos superiores a 1:1280. E pacientes HIV assintomáticos com antigenemia positiva e com títulos de CrAg acima de 1:160 apresentam letalidade elevada mesmo sob terapia preemptiva com fluconazol (Rajasingham, 2019).

Para fins diagnósticos, os exames radiológicos são úteis para detectar complicações da neurocriptococose como hidrocefalia e criptocomas. Já o líquido pode apresentar uma pleocitose linfocítica e sinais de inflamação, entretanto, até 17% dos pacientes podem ter líquido normal, principalmente paciente portadores do HIV, podendo a pressão de abertura líquórica estar elevada (Sloan, 2014).

Os fatores de risco para letalidade precoce na meningite criptocócica mais importantes são o estado mental alterado ao diagnóstico, CrAg no líquido  $>1024$ , leucorraquia  $< 20$  células/mm<sup>3</sup>, idade abaixo de 35 anos, além destes, criptococose extraneural, hipernatremia também são parâmetros de mau prognóstico nestes casos os quais devem ser avaliados precocemente na admissão. (Pappalardo, 2003).

Em um estudo, quando comparados PVHA e NHNT, os primeiros foram mais propensos a terem CrAg sérico positivo e meningite criptocócica com maiores títulos de CrAg no líquido em relação aos demais. Porém, neste mesmo estudo, a mortalidade nos pacientes NHNT foi significativamente maior, o que deve ser avaliado à luz do aumento do acesso à ARV o que reduz a parcela de pacientes com HIV com novas infecções criptocócicas (Hevey, 2019).

As PVHA apresentam predominantemente infecções no SNC e seus sintomas associados, com maior propensão a culturas positivas e altos títulos de CrAg no líquor que os demais, além de uma tendência a diagnóstico mais rápido que os comparadores, infelizmente alguns destes diagnósticos são feitos post-mortem, mas em uma parcela estes diagnósticos são feitos em vida e os pacientes não tratados (Hevey, 2019).

Fatores de mal prognóstico na admissão hospitalar quando avaliada a letalidade em 90 dias após o diagnóstico são a alteração do nível de consciência, infecção disseminada, HIC, baixa contagem de leucócitos e elevados títulos de CrAg no líquor. Já fatores de risco para refratariedade ou recidiva são menos precisos e incluem infecção fora do SNC, baixa leucorraquia e corticoterapia durante ou após a terapia antifúngica (Nascimento, 2016).

Altos títulos de CrAg assim como a contagem das unidades formadoras de colônia fúngica no líquor podem ser marcadores de carga do agente infeccioso, com possibilidade de ter valor na previsão de recidiva da infecção, com ambos tendo associação com aumento de letalidade em 2 e 10 semanas. Desta maneira, o status da cultura de fungo no líquor em 2 semanas, tem forte associação com resultado clínico em 10 semanas (Brouwer, 2005).

O CrAg quantitativo pode refletir a carga de fungo viável, confirmado por culturas quantitativas, podendo ser influenciado pela duração da infecção, visto a lentidão na eliminação do polissacarídeo capsular criptocócico. Durante o tratamento, a contagem de unidades formadoras de colônias fúngicas reduzem mais rapidamente que os títulos de CrAg nas primeiras duas semanas, não sendo o CrAg um bom marcador de resposta ao tratamento neste período (Brouwer, 2005).

O diagnóstico de criptococose pulmonar pode ser realizado de forma definitiva diante de achados clínicos e/ou radiológicos da infecção pulmonar e isolamento do fungo nas secreções ou tecidos sem outras etiologias suspeitas e o diagnóstico provável que consiste em achados clínico e radiológicos de infecção pulmonar, achados histopatológicos de levedura encapsulada



compatíveis com *Cryptococcus* spp. com culturas negativas e/ou CrAg sorológico positivo (Fisher, 2016).

A punção lombar deve ser realizada nos pacientes com criptococose pulmonar definitiva ou provável, com exceção dos pacientes que apresentam nódulos pulmonares assintomáticos, sem sintomas neurológicos e com CrAg sorológico negativo ou muito baixo, visto o crescente aumento de casos de pacientes com criptococose no SNC imunocompetentes (Fisher, 2016).

Radiologicamente, outras infecções pulmonares se assemelham à criptococose como infecção por bactérias, micobactérias, parasitárias, virais e doenças neoplásicas. À exceção das doenças disseminadas o CrAg e culturas no soro e sangue são raramente positivos quando do diagnóstico da criptococose pulmonar. O CrAg pode apresentar resultado falso-positivo na presença de fator reumatoide, infecções por *Klebsiella pneumoniae*, *Trichosporon beigelii*, *Stomatococcus mucilaginosus*, *Capnocytophaga canimorsus*. Já as culturas podem ser negativas em amostras histopatológicas diante da possibilidade de agentes inviáveis no espécime e nos granulomas fúngicos, porém quando do acometimento pulmonar a punção lombar é recomendada. (Setianingrum, 2019).

Para o diagnóstico da criptococose cutânea localizada é fundamental descartar a forma disseminada da doença, assim, culturas de sangue, liquor, urina, CrAg, tomografia de tórax e broncoscopia, se for o caso, são fundamentais. A manifestação secundária da forma disseminada pode ser caracterizada por inflamação da derme profunda ou gordura subcutânea, lesões profundas ou cutâneas multifocais, além de título de CrAg sérico maior ou igual a 512 (Noguchi, 2019).

A apresentação em forma de celulite é mais comum em pacientes imunocomprometidos, estando mais associada a doença disseminada com elevada prevalência de antígeno criptocócico positivo (Christianson, 2003).

Já a SIRI relacionada a meningite criptocócica se apresenta comumente com pressão de abertura elevada e com marcadores inflamatórios mais elevados em comparação com a meningite criptocócica em

si, assim como aumento de celularidade, hiperproteinorraquia, consumo de glicose e com cultura negativa para fungos (Longley, 2013).

Fatores associados ao desenvolvimento da SIRI – relacionada a meningite criptocócica são a baixa resposta inflamatória basal, rápida reconstituição imune e elevada carga fúngica, assim baixa contagem de células de defesa e proteínas no liquor no episódio primário de meningite criptocócica estão associados a uma posterior SIRI. No mesmo caminho, fungemia e altos títulos de CrAg no soro também guardam a mesma relação (Longley, 2013).

Intimamente relacionada a essa escassez de inflamação, a alta carga de organismo no início do quadro demonstra ser um forte fator de risco para o desenvolvimento subsequente de SIRI. Assim, fungemia, altos títulos do CrAg no soro e liquor, além da demora na eliminação fúngica durante a terapia direcionada, a positividade da cultura com 2 semanas de indução ou no momento de início da TARV e a rápida restauração imunológica (elevação da contagem de CD4 e queda da carga viral após a ARV) mostram um maior risco de SIRI criptocócica (Longley, 2013).

## 1.6. TRATAMENTO

O manejo da criptococose é complexo, passa pela suspeição da infecção, conhecimento das ferramentas diagnósticas e seu adequado emprego, além da definição da infecção, sítios acometidos, seleção dos antifúngicos a serem utilizados e gerenciamento dos eventos adversos advindos destas medicações, o emprego de terapias adjuvantes e suas consequências, além da compreensão das comorbidades associadas, juntamente com seguimento durante e após a terapia.

A meningite criptocócica é uma importante e grave manifestação desta infecção fúngica e o seu tratamento tem como alicerce regimes terapêuticos baseados no uso da anfotericina B isolada ou associada a flucitosina ou fluconazol. O tratamento é dividido nas etapas de indução, consolidação e manutenção. A duração de cada uma destas fases pode depender das

comorbidades associadas, condições à admissão do paciente, evolução clínica, resultados microbiológicos e radiológicos (Lofgren, 2017; Vaidhya, 2015; WHO, 2011).

A fase de indução no acometimento neurológico em pacientes com HIV segundo a OMS em 2018 deve ser realizada com anfotericina B desoxicolato 1mg/kg/dia, associado a flucitosina 100mg/kg/dia divididas em 4 doses por 7 dias, seguido de fluconazol 1.200 mg/dia para adultos ou 12mg/kg/dia (máximo de 800mg/dia) para crianças e adolescentes. Regimes alternativos nesta população, são flucitosina 100 mg/kg/dia divididas em 4 doses associada a fluconazol 1.200 mg/dia para adultos ou 12 mg/kg/dia (máximo de 800 mg/dia) para crianças e adolescentes por 14 dias. Na ausência de flucitosina, anfotericina B desoxicolato 1mg/kg/dia, associado a fluconazol 1.200 mg/dia ou 12 mg/kg/dia (máximo de 800 mg/dia) para crianças e adolescentes ambas por 14 dias (WHO, 2018).

No entanto, deve-se avaliar um aumento na duração da indução se o paciente mantém cultura positiva após 14 dias de terapia, estão em coma ou em deterioração clínica, HIC persistente e quando estão presentes lesões cerebrais sugestivas de criptococoma (PCDT, 2017).

Recentemente, um estudo evidenciou que a terapia de indução com 10mg/kg de anfotericina B lipossomal no primeiro dia, seguido de 14 dias flucitosina 100mg/kg/dia associado a fluconazol 1200mg/dia mostrou não inferioridade quando avaliada a mortalidade em 10 semanas, além de menor quantidade de eventos adversos, passando a ser uma recomendação da OMS em 2022, entretanto persiste a dificuldade de acesso a flucitosina em grande parte do mundo (Jarvis, 2022; WHO, 2022).

A indução em pacientes transplantados de órgãos sólidos ou células tronco e imunossuprimidos não portadores de HIV é preferencialmente realizada com anfotericina B desoxicolato e flucitosina por 2 semanas na posologia previamente mencionada. Os regimes alternativos são com anfotericina B lipossomal 3 a 5 mg/kg/dia ou anfotericina B complexo lipídico 5mg/kg/dia por 4 a 6 semanas, com estas últimas medicações alternativas a

anfotericina B desoxicolato quando esta não pode ser tolerada (Perfect, 2010; Henao-Martínez, 2018; Baddley, 2019).

Nos pacientes não portadores de HIV e não transplantados, o regime inicial também é realizado com anfotericina B desoxicolato com flucitosina agora por 4 semanas e se intolerância a esta anfotericina ou não uso de flucitosina, as alternativas são as duas formulações lipídicas já citadas por pelo menos 4 semanas (Perfect, 2010; Henao-Martínez, 2018).

É fundamental avaliar a presença de complicações neurológicas (convulsões, dores de cabeça persistentes, déficits neurológicos focais, manifestações oculares ou auditivas), envolvimento do parênquima cerebral (criptococoma), manejo da imunossupressão subjacente e a esterilização do líquido em 2 semanas para a melhor determinação da duração da indução. Esta fase pode ser estendida para até 4 a 6 semanas quando da ausência de flucitosina, presença de criptococomas e culturas persistentemente positivas. Deve-se ter atenção quanto a presença de criptococomas em pacientes muito imunossuprimidos que não apresentam resposta à terapia empregada quanto a possibilidade de tratar-se de um segundo agente infeccioso ou até mesmo de uma neoplasia (Perfect, 2010; Henao-Martínez, 2018; Skipper, 2019).

A etapa de consolidação é iniciada habitualmente a partir de 14 dias da introdução dos antifúngicos, visto que em algumas situações a indução pode ter uma duração superior a 2 semanas. Esta fase é realizada com fluconazol 400 a 800 mg/kg/dia ou 6 a 12mg/kg/dia para crianças e adolescentes (dose máxima 800mg/dia). Em pacientes com esterilização da cultura ao final de 14 dias de indução a dose do fluconazol pode ser de 400 mg/dia, uma dose fungistática, entretanto, diante do atraso do resultado da cultura neste período, deve-se manter a dose de 800mg/dia, que possui ação fungicida até a verificação da ausência de crescimento do fungo no líquido e assim ajuste da posologia do fluconazol (WHO, 2018; Perfect, 2010; Skipper, 2019).

A consolidação é realizada por um período de 8 semanas e tem capacidade de reduzir a recidiva da meningite criptocócica, entretanto, em pacientes com criptococomas cerebrais, apesar do baixo nível de evidência a

consolidação juntamente com a manutenção com fluconazol 400 a 800mg/dia deve ser realizada por até 18 meses. Alternativas ao fluconazol nesta fase são itraconazol 200mg duas vezes ao dia, porém com resultados inferiores. (WHO, 2018; Perfect, 2010; Skipper, 2019).

A última etapa do tratamento da meningite criptocócica é a manutenção (terapia supressiva ou profilaxia secundária), a qual é realizada com fluconazol 200 mg/dia pelo menos duas contagens de CD4 superiores a 200 células/mm<sup>3</sup> com intervalo de seis meses entre os exames nos pacientes portadores de HIV e pelo menos 12 meses nos demais pacientes. As alternativas são itraconazol 200mg/dia ou anfotericina B desoxicolato 1mg/kg/semana, mas os resultados quando comparados ao fluconazol podem desapontar (WHO, 2018; Perfect, 2010; Skipper, 2019; Sloan, 2014; Mourad, 2018).

A terapia das manifestações externas ao SNC depende da extensão do acometimento e da gravidade do quadro. As apresentações graves com fungemia ou comprometimento pulmonar importante devem ser manejadas da mesma maneira que a meningite criptocócica com duração aproximada de 12 meses. Em quadros leves e moderados, sem fungemia e descartado quadros neurológicos associados, a terapia deve ser realizada com fluconazol 400 mg/dia (6 mg/kg/dia) por 6 a 12 meses, com itraconazol 200mg duas vezes ao dia, voriconazol 200 mg duas vezes ao dia ou posaconazol 400 mg duas vezes ao dia, alternativas diante da contraindicação ao fluconazol (IDSA, 2010; Henao-Martínez, 2018).

Nos pacientes com HIV, a OMS e Ministério da Saúde do Brasil, recomendam a triagem de pacientes com contagem de CD4 abaixo de 100 células/mm<sup>3</sup> para detecção da doença criptocócica e terapia preemptiva em locais de prevalência da antigenemia criptocócica maior que 3%. Trata-se de uma abordagem custo efetiva e capaz de evitar óbitos, visto que a antigenemia positiva no sangue periférico antecede em até 3 semanas a meningite criptocócica (Sawadogo, 2016; Rajasingham, 2012; Meya, 2010; Rajasingham, 2019).

Neste cenário, os pacientes sem ARV ou sob esta sem efetividade, deveriam ser testados para aglutinação em látex ou LFA com amostras do soro ou plasma e se positivos, submetidos a punção lombar para se descartar o acometimento do SNC. Nos pacientes sem envolvimento neurológico, inicia-se a terapia preemptiva com 800mg/dia com fluconazol por 14 dias, seguida de 400 mg/dia por 8 semanas (PCDT, 2017; WHO, 2018).

A terapia com base no uso de anfotericina B é amplamente aceita, juntamente com uma segunda medicação, habitualmente flucitosina a qual pode ser indisponível em algumas regiões tornando o fluconazol uma alternativa neste contexto (Yao, 2014).

A terapia combinada quando realizada com flucitosina é superior ao uso isolado da anfotericina B na esterilização do líquido e recentes estudos tem mostrado superioridade da associação com fluconazol em relação ao uso isolado da anfotericina B, com destaque a uma dose mais elevada deste azólico de 1200mg ao dia. O fluconazol nas posologias mencionadas apresenta elevada concentração no líquido e sangue, estando associado a melhora da sobrevida e sucesso do tratamento (Perfect, 2015; WHO, 2011; Perfect, 2010).

A associação de flucitosina ou fluconazol em dose elevada à anfotericina B deve ser realizada durante a fase de indução visando a elevação das propriedades fungicidas e redução da toxicidade da anfotericina B isoladamente, visto ser a meta do tratamento da meningoencefalite criptocócica a cura da infecção, confirmada pela esterilização do líquido e prevenção de sequelas neurológicas como perda visual, auditiva ou paralisia de nervos cranianos (Yao, 2014).

A droga de escolha no tratamento da doença criptocócica grave é a anfotericina B, um polieno que exerce sua atividade fungicida pela interação com o ergosterol presente na membrana fúngica levando a formação de poros nesta membrana, mas também pode se ligar aos esteróis humanos levando a toxicidade (Grossman, 2017; Henao-Martínez, 2018; Nematollahi, 2020).

A anfotericina B é uma medicação de administração venosa e requer monitorização laboratorial rotineira, visto elevado potencial para eventos adversos como anemia, insuficiência renal, flebites e alteração de eletrólitos. Apesar da fraca penetração no sistema nervoso central de todas as formulações deste polieno, o que pode melhorar diante da inflamação da meninges, eles aceleram o clearance fúngico no liquor, podendo um curso curto de anfotericina B desoxicolato apresentar menores reações sem comprometer a taxa de eliminação da infecção quando comparada a duração padrão de duas semanas de tratamento, visto a longa meia vida da anfotericina B no tecido cerebral, além da redução dos eventos ligados a terapias superiores a 7 dias que podem contribuir para elevar a mortalidade (Molloy, 2018; Falci, 2010; O'Connor, 2020; Ashley, 2019).

Mesmo diante dos pontos citados, recomenda-se a favor da anfotericina B desoxicolato como primeira linha de tratamento diante da diferença de preço em relação as formulações lipídicas se o paciente não está em uso de outras drogas nefrotóxicas, não possuiu fatores de risco para disfunção renal e seja manejado de forma adequada com pré-hidratação e reposição de eletrólitos (Bicanic, 2012).

Uma estratégia para diminuir o tempo de exposição a anfotericina B desoxicolato, é a administração desta medicação por via intratecal. No entanto, a formulação desoxicolato possui importante efeito irritante direto sobre as meninges e raízes nervosas, o que dificulta sua tolerância, levando a dores nos membros inferiores, vômitos, prostração e alterações mentais. Estes fatos podem ser minimizados com o uso intratecal da anfotericina B lipossomal associada a forma desoxicolato venosa por 7 dias, limitando os eventos adversos desta última que tendem a ocorrer na segunda semana de terapia (Alvarez-Uria, 2015; Alvarez-Uria, 2018).

Neste contexto, em cenários de recursos limitados, para manejo da neurocriptocose, a drenagem liquórica e injeção intratecal lombar de

anfotericina B lipossomal pode ser considerada uma alternativa segura e eficaz às punções lombares repetidas no tratamento da meningite, com baixa incidência de infecção bacteriana no SNC associada ao cateter, tendo como principais complicações a irritação dos nervos lombossacrais (dor lombar e nas pernas) e retenção urinária. Fora o aumento da concentração da droga após administração intratecal da anfotericina B lipossomal, que possui baixa penetração no SNC quando administrada por via endovenosa, a drenagem lombar permite reduzir a pressão intracraniana e reduzir a carga fúngica o que acarreta melhora dos sintomas (Yuchong, 2011).

Já a flucitosina foi criada como um potencial agente antitumoral em 1957, utilizada como antifúngico no tratamento de candidíase humana e criptococose de 1968 até a atualidade. Ela não tem ação antifúngica, ela age após conversão em 5-FC dentro das células fúngicas suscetíveis, levando a codificação incorreta de RNA e inibição da síntese de DNA das células fúngicas. Esta medicação possui rápida absorção oral e biodisponibilidade de até 89%. É uma molécula pequena, altamente solúvel, com baixa ligação proteica, atingindo bons níveis nos fluidos cérebro-espinhais, vítreos e nas unhas, excretada principalmente pelos rins e retirado de forma eficaz pela hemodiálise, devendo ser utilizada após a sessão se necessário (Loyse, 2013; Bellmann, 2017).

A flucitosina tem excelente penetração no SNC, porém com ação fungistática e não deve ser utilizada isoladamente diante do rápido desenvolvimento de resistência (Ashley, 2019; Bellmann, 2017). A ausência da flucitosina no esquema terapêutico de indução está associada a recidiva tardia, falha de tratamento e altas taxas de mortalidade (Sloan, 2014).

Quando em altas concentrações séricas (>100 mg/L) por tempo prolongado, os pacientes podem apresentar toxicidade hematológica, principalmente neutropenia, além de alterações gastrointestinais como



diarréia, vômitos e até hepatotoxicidade. É uma droga categoria C na gravidez, teratogênica em modelos animais (Loyse, 2013; Bellmann, 2017).

Os azólicos agem no ergosterol na membrana da célula fúngica e o acúmulo de precursores tóxicos contribuem para sua atividade fungistática. É uma medicação bem tolerada, com elevada biodisponibilidade após administração oral, com baixa ligação proteica e eliminação de até 80% por via renal, entretanto, pode ser hepatotóxico e levar ao prolongamento do intervalo QT e conseqüentemente arritmias. Apresenta elevada concentração na urina e pele, podendo exceder a plasmática nestes sítios, com cerca de 50 a 90% da concentração plasmática no liquor (Bellmann, 2017; Ashley, 2019; Yao, 2014).

O fluconazol quando na dose de 400 mg/dia apresenta ação fungistática, passando a ter uma ação fungicida a partir de 800 a 1200 mg ao dia, com aumento significativo do clearance fúngico nestas posologias tornando fundamental manter estas doses elevadas nas primeiras duas semanas de tratamento e até, provavelmente, o início da ARV visando reduzir a emergência de resistência e melhores resultados (Meya, 2010; Longley, 2008).

Porém, doses muito elevadas de fluconazol como 1600 a 2000 mg ao dia, apresentam importante toxicidade no SNC como confusão, letargia, desorientação, pesadelos e alucinações (Anaisie, 1995). No mesmo sentido, a dose de 400 mg/dia é inadequada para tratamento de doenças graves como criptococose disseminada e no SNC na fase de indução. Diante da ação sobre o ergosterol da anfotericina B e do fluconazol existe possibilidade de sinergismo destas medicações contra *Cryptococcus* spp. (Bicanic, 2012; Yao, 2014).

Estas três principais medicações utilizadas no tratamento da criptococose tem categorias diferentes quanto a gestação. A anfotericina B desoxicolato é classificada pelo FDA como categoria B, ou seja, sem evidência de risco em humanos, já flucitosina e fluconazol como categoria C na gestação. Assim, a meningite criptocócica nestas pacientes, deve ser

tratada com anfotericina B durante a terapia de indução, seguida de anfotericina B semanal na fase de consolidação quando no primeiro trimestre de gestação. No segundo e terceiro trimestre deve-se pesar os riscos e benefícios de usar fluconazol na fase de manutenção visto que após o primeiro trimestre os riscos são menores ao feto, mas não são nulos. Após o parto o fluconazol deve ser instituído na fase de consolidação ou manutenção (skipper, 2019; Loyse, 2013; Perfect, 2010).

A associação de flucitosina a anfotericina B em quadros de meningite criptocócica a partir do segundo semestre tem sido realizada, entretanto, deve-se pesar os riscos e benefícios visto ser uma droga com potencial teratogenicidade. Na indisponibilidade da formulação desoxicolato, a anfotericina lipossomal pode ser utilizada (Perfect, 2010; Loyse, 2013).

Após o diagnóstico e início do tratamento da meningite criptocócica, é necessário avaliar a resposta à terapia. Desta maneira, o PCDT aids recomenda que a cada 7 dias após a introdução dos antifúngicos seja realizada uma punção lombar e amostras do liquor enviadas para cultura para fungos. A pesquisa com tinta Nanquim ou do antígeno criptocócico não devem ser utilizadas para controle de cura diante do clearance da cápsula de polissacarídeos (CrAg) pelos macrófagos ser lento e independente da morte das leveduras pela terapia, persistindo em altos títulos durante o tratamento e por meses, não podendo ser um substituto da cultura, a qual possui como empecilho o fato de requerer 14 dias para definir sua negatividade (PCDT, 2017; WHO, 2018; Kabanda, 2014; Wijewardana, 2011; Antinori, 2005).

Além do acompanhamento da resposta terapêutica, a identificação e manejo da HIC é crucial nos pacientes com neurocriptococose, visto que esta condição pode estar presente em até 80% dos pacientes com HIV. Assim, diante da suspeita da meningite criptocócica a aferição da pressão de abertura é fundamental, pois alguns pacientes podem estar com HIC mesmo na ausência de sintomas neurológicos evidentes, além do fato de pacientes com pressão de abertura inicial normal poderem evoluir com HIC durante o

tratamento, tornando a aferição da pressão de abertura essencial (WHO, 2018; Skipper, 2019).

O fato de muitos pacientes não terem aferição da pressão de abertura basal indica uma ausência de consciência sobre a importância da hipertensão intracraniana em paciente com AIDS e meningite criptocócica. (Graybill, 2000).

Recomenda-se que pacientes com meningite criptocócica e pressão de abertura liquórica inicial normal sejam submetidos a nova punção cerca de 72 horas após a primeira punção, já que até 40 % destes pacientes podem evoluir com HIC, ou sempre que sinais e sintomas de HIC estejam presentes, visto a natureza dinâmica desta doença acometendo o SNC (WHO, 2018; de Vedia, 2013).

A pressão de abertura inicial elevada está correlacionada a elevada carga fúngica quantitativa e aumento da letalidade, desta maneira, o manejo agressivo da HIC na meningite criptocócica associada ao HIV traz benefícios clínicos incluindo na sobrevida (Skipper, 2019; Sloan, 2014).

A persistente HIC tem maior impacto no resultado do paciente do que a elevação basal da pressão intracraniana. Conseqüentemente, a drenagem inicial de liquor é capaz de modular positivamente o desfecho desta doença diante da redução da carga fúngica e antigênica liquórica, permitindo a ação dos antifúngicos em uso, desta forma, o manejo agressivo da HIC é um dos mais importantes elementos para minimizar morbidade e mortalidade nos pacientes com meningite criptocócica associada a aids (de Vedia, 2013).

Assim, com o intuito de melhorar o desfecho destes pacientes, conduzir a HIC para valores normais tem que ser uma meta no manejo destes pacientes e, às vezes, mais de uma punção lombar de alívio diária pode ser necessária (de Vedia, 2013).

Em pacientes com sinais e sintomas de HIC recomendam-se repetidas punções lombares para alívio da hipertensão até retorno a normalidade da pressão intracraniana. Porém, em pacientes sem tolerância as punções ou com contraindicações a elas como edema cerebral persistente ou lesões com

desvio de linha média, deve-se proceder ao shunt liquórico já que a HIC é um fator de redução de sobrevida (Wu, 2019).

Para o controle desta HIC as punções lombares de repetição com aferição da pressão de abertura liquórica são fundamentais e preferencialmente realizadas com raquimanometro. Deve-se reduzir a pressão de abertura inicial em 50% da basal quando esta for muito elevada ou deixar abaixo de 20 cm H<sub>2</sub>O quando possível, com a pressão sendo aferida novamente a cada 10 ml de liquor retirado a fim de se chegar ao valor citado. Em situações que os manômetros não estão disponíveis, cerca de 20 a 30 ml podem ser retirados (Bicanic, 2012; Wijewardana, 2011; WHO, 2018; PCDT, 2017).

O antígeno criptocócico é considerado um importante modulador da imunidade, e ao final de 14 dias de tratamento, sua persistência e a presença de fungos viáveis está associada a possibilidade de síndrome inflamatória da reconstituição imune. Desta maneira, a drenagem de grandes volumes de liquor, ou seja,  $\geq 100$  ml ao final de 2 semanas, contribui para reduzir o CrAg. Estas punções diárias para controle da HIC podem ser suspensas após duas aferições consecutivas dentro da normalidade e diante do não controle da HIC após 7 a 10 dias de punções de alívio deve-se considerar uma abordagem neurocirúrgica para controle do quadro, com as derivações liquóricas temporárias preferidas às definitivas (Bicanic, 2012; Wijewardana, 2011; WHO, 2018; PCDT, 2017).

Apesar da HIC estar associada a maior carga fúngica e mortalidade, o uso de medicações para reduzir a HIC secundária a criptococose como acetazolamida, corticoides, manitol e furosemida não tem benefício (Sloan, 2014; PCDT, 2017; WHO, 2018).

Os efeitos anti secretores de liquor da acetazolamida podem ser insuficientes para reduzir a pressão intracraniana em face da obstrução grave do fluxo (causada por criptococos ou polissacarídeo capsular) de drenagem do liquor através das vilosidades aracnoides (Newton, 2002). HIC persistente

e incorretamente manejada são razões primárias para o pobre prognóstico e falha terapêutica (Liu, 2019).

A acetazolamida, um inibidor da anidrase carbônica, que não deve ser usado em pacientes com hipersensibilidade a sulfonamidas, pode causar hipocalcemia e acidose metabólica, principalmente se insuficiência renal estiver presente, eventos que também podem ser causados pela anfotericina B, a principal droga da terapia da meningite criptocócica, desta forma a associação destas medicações pode resultar em disfunção tubular renal e graves consequências. (Newton, 2002).

Já o manitol pode ser responsável por desidratação e seu uso por longo tempo por levar a dor de cabeça, tontura, insuficiência cardíaca e disfunção tubular renal e esta desidratação causada por medicação com baixa eficácia no controle da HIC da neurocriptococose pode acentuar os danos renais. (Liu, 2019).

Neste contexto, pacientes sem resposta às punções para controle da HIC ou com contraindicações como edema cerebral persistente, lesões cerebrais com desvio de linha média devem ser submetidas a um shunt liquórico (Wu, 2019).

Estas derivações ventriculares podem ser colocadas mesmo na ausência de hidrocefalia naqueles pacientes com HIC persistente. Entre as complicações das derivações estão infecções secundárias, obstrução do shunt e excesso de drenagem. Nas obstruções o ajuste na posição ou recolocação do shunt podem resolver, neste mesmo cenário, a monitorização dos níveis de proteína no pós-operatório é de extrema importância já que a obstrução pode ser secundária a elevados níveis de proteína no líquido. Já a drenagem excessiva pode levar a dor de cabeça devido queda da pressão intracraniana e punções lombares deveriam ser realizadas com regularidade para monitorar a pressão e realizar os ajustes visando uma pressão intracraniana adequada. (Liu, 2019; Corti, 2014).

Pacientes com HIC apresentam elevada quantidade de polissacarídeos capsulares obstruindo a circulação normal do líquido, assim quando da

realização da derivação ventrículo peritoneal (DVP), estes fungos são drenados para a cavidade abdominal, onde encontram condições menos favoráveis para proliferação além de uma melhor penetração dos antifúngicos através da barreira sangue peritônio quando comparada a penetração hematoencefálica, atingindo maior concentração da medicação, além de maior atividade de fagócitos e da função imune na cavidade peritoneal que no crânio, podendo a DVP ser efetiva em reverter a alteração de consciência, perda da visão e audição (Liu, 2019).

O início da ARV em PVHIV com neurocriptococose deve ocorrer entre 4 e 6 semanas após a introdução da terapia antifúngica diante do risco de SIRI. A prevenção da SIRI paradoxal pode-se dar com terapia antifúngica eficaz o que leva a uma redução da carga fúngica na ocasião da introdução da ARV (WHO, 2018; PCDT, 2017; Wu, 2019; Boulware, 2014).

Nos pacientes HIV com meningite criptocócica tratados, que apresentam recidiva sintomática após o início da ARV, torna-se fundamental descartar a não adesão a terapia de manutenção ou a não prescrição do fluconazol nesta fase, procurar diagnósticos alternativos, como meningite tuberculosa concomitante, outras doenças sistêmicas, proceder à punção lombar e aferição da pressão de abertura liquórica com o devido controle da hipertensão intracraniana se presente, através de punções diárias e reiniciar a fase de indução até a confirmação cultura de fungos no liquor negativa ou diagnóstico alternativo estabelecido (Longley, 2013).

Descartada a recidiva do quadro, a terapia de manutenção deve ser reintroduzida e a ARV em uso mantida. Se o paciente mantém deterioração clínica apesar das medidas acima instituídas e sem nenhum diagnóstico alternativo, prednisolona 0,5 a 1 mg/kg dia ou dexametasona em doses elevadas, se graves sintomas neurológicos, podem ser instituídas, com redução gradual da dose entre 2 e 6 semanas para manejo da SIRI. Pacientes sem manifestações graves podem ser conduzidos de forma conservadora e pacientes com meningite criptocócica desmascarada devem ser manejados como qualquer outro caso de meningite criptocócica (Longley, 2013).

Nos pacientes não portadores de HIV, fora o atraso no diagnóstico da meningite criptocócica pela baixa suspeição, comorbidades graves, idade avançada, impossibilidade de reversão da condição de imunossupressão e falta de manejo dos profissionais que lidam com estes casos são responsáveis pelos desfechos inadequados nesta população, como perda auditiva, alterações da fala, elevada frequência de acidente vascular cerebral e déficits cognitivos (Motoa, 2020).

Para manejo da criptococose, alguns fatores ligados ao agente infeccioso também devem ser levados em consideração. Alguns estudos demonstraram uma maior concentração inibitória mínima (CIM) de *C. gattii* ao fluconazol, porém mantendo suscetibilidade adequada à anfotericina B, além do *C. laurentii* que pode apresentar reduzida sensibilidade ao fluconazol. No entanto, a relação entre as altas CIM de *C. gattii* e a resposta clínica não foi esclarecida (Silva, 2012; Lockhart, 2012; Bernal-Martinez, 2020).

Assim, a avaliação da susceptibilidade do *Cryptococcus* spp. aos antifúngicos no primeiro episódio da doença não tem utilidade em otimizar o tratamento da meningite criptocócica e não se correlaciona com sobrevida ou clearance micológico (O'Connor, 2020).

Há registros de heterorresistência intrínseca dos *Cryptococcus* spp. ao fluconazol, isto é, resistência transitória de uma população de células com capacidade de se proliferar quando submetidas a elevadas concentrações de fluconazol, mas que perdem esta resistência quando da supressão da medicação. Neste contexto, a persistência da antigenemia do fungo durante o tratamento de uma infecção por longo tempo pode criar um reservatório para a emergência de heterorresistência, como já observada na monoterapia com fluconazol, porém a associação deste azólico com flucitosina o surgimento de heterorresistência pode ser suprimida (Zafar, 2019).

A alta taxa de letalidade em países de baixa e média renda pode estar relacionada ao diagnóstico tardio do HIV associada ao atraso na realização de testes diagnósticos para criptococose, fato associado a grandes diferenças na distribuição de recursos de saúde nessas áreas e à grave

imunossupressão que alguns pacientes se encontram, associados a anemia, desnutrição e comprometimento neurológico grave, bem como baixo acesso ao diagnóstico rápido da infecção fúngica associada ao manejo médico inadequado de medicamentos e do controle da pressão intracraniana elevada (Vidal, 2013).

Vários outros fatores estão associados a falha ao tratamento e à letalidade relacionada à meningite criptocócica, como: alta carga fúngica, atraso na eliminação do fungo no líquido cefalorraquidiano, alteração do estado mental na admissão, baixa contagem de leucócitos no líquido cefalorraquidiano, anormalidades na imagem cerebral, pressão intracraniana elevada na admissão e que não foi controlada posteriormente, falta de punções lombares de alívio, infecção disseminada e duração dos sintomas até o diagnóstico (Vidal, 2015).



## 2. JUSTIFICATIVA

De acordo com dados da demografia médica brasileira em 2015, o Brasil possui 2,1 médicos por 1.000 habitantes, abaixo dos EUA com 2,5 e Canadá com 2,4 médicos por 1000 habitantes (Scheffer, 2015). O Distrito Federal (DF), Brasília, possui 2,97 médicos por 1.000 habitantes, um grande sistema de saúde público e privado, mas apresenta uma alta taxa de letalidade por casos de criptococose. O Distrito Federal encontra-se geograficamente entre o sul e sudeste do país, onde prevalece *C. neoformans*, e o Norte e Nordeste, onde prevalece *C. gattii*. A par deste interessante aspecto epidemiológico, é de extrema importância conhecer a prevalência da criptococose associada à aids nesta região brasileira que possuiu alta renda per capita, um amplo sistema de saúde e acesso a laboratórios com infraestrutura adequada para diagnóstico de doenças fúngicas.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1. OBJETIVOS**

##### **3.1.1. Objetivo geral**

Conhecer o perfil epidemiológico dos pacientes com criptococose no Distrito Federal e os determinantes da letalidade na capital federal de 2014 a 2019.

##### **3.1.2. Objetivos específicos**

- a) Descrever as características clínicas e sociodemográficas dos pacientes com criptococose no Distrito Federal.
- b) Estimar a proporção de pacientes com criptococose causada por *Cryptococcus gattii*.
- c) Verificar se há diferença na letalidade entre os pacientes com sorologia reagentes ou não para o vírus da imunodeficiência humana
- d) Determinar a sobrevida em 2 e 10 semanas após o diagnóstico de criptococose no sistema nervoso central conforme adesão as recomendações de manejo.

#### **3.2. MÉTODOS**

##### **3.2.1. Delineamento**

Estudo observacional, analítico, descritivo e retrospectivo do tipo coorte histórica.

##### **3.2.2. População de estudo**

O estudo foi realizado a partir de dados secundários de todos os pacientes com criptococose no Distrito Federal, Brasil, no período de primeiro de janeiro de 2014 a 31 de dezembro de 2019.

### **3.2.3. Critérios de inclusão**

Pacientes da rede pública de saúde do Distrito Federal, Brasil, com qualquer amostra positiva para fungos do gênero *Cryptococcus* spp. seja pesquisa direta ou cultura para fungo ou teste imunocromatográfico para identificação do antígeno criptocócico (CrAg), independentemente da idade ou sexo do paciente.

### **3.2.4. Descrição dos cenários de estudo/serviços**

O rastreamento dos pacientes com infecção pelos fungos do gênero *Cryptococcus* spp. foi realizado através de dados obtidos junto ao Laboratório Central (LACEN) situado em Brasília, visto ser o local onde ocorre a identificação dos fungos de amostras colhidas nos serviços de saúde do Distrito Federal ou do laboratório do Hospital da Universidade de Brasília. A diferenciação dos fungos do gênero *Cryptococcus* spp. entre *C. neoformans* e *C. gattii* foi realizada através da genotipagem do gene URA5 ou Agar CGB.

### **3.2.5. Variáveis de interesse**

Foram colhidas e utilizadas variáveis sociodemográficas como sexo, idade, onde viveu os primeiros 5 anos de vida e procedência (onde paciente se encontrava antes de ser diagnosticado com a criptococose), variáveis clínicas como presença de comorbidades se apresentaram de forma insuficiente, limitando a apresentação dos dados: insuficiência hepática, diabetes mellitus, imunodeficiência primária e uso de medicações imunossupressoras como corticoides; variáveis ligadas a presença do vírus da imunodeficiência adquirida como: diagnóstico do HIV previamente a infecção fúngica, diagnóstico conjunto das duas infecções, contagem de linfócitos T CD4, tempo entre o início dos sintomas de criptococose e o diagnóstico de HIV nos pacientes sem diagnóstico da infecção viral prévia,

tempo entre o diagnóstico de criptococose até o início da terapia para esta infecção viral em pacientes que não estavam em uso de terapia antirretroviral; variáveis ligadas ao fungo e a doença criptocócica: espécie (*C. neoformans* e *C. gattii*), local de identificação do fungo (pele, partes moles, pulmão, sangue, líquido cefalorraquidiano), presença de hipertensão intracraniana (pressão de abertura líquórica  $\geq 25$  cm H<sub>2</sub>O ou papiledema na oftalmoscopia ou radiologicamente), valor da pressão de abertura quando aferida nos pacientes submetidos a punção lombar, tempo entre o começo dos sintomas da infecção criptocócica até o local onde foi realizado o teste que fez o diagnóstico, tempo entre a primeira consulta onde foi feito o diagnóstico e a confirmação laboratorial, tempo entre a confirmação laboratorial e início dos antifúngicos e o tempo entre confirmação laboratorial e a intervenção neurocirúrgica.

As variáveis avaliadas quanto ao tratamento foram: terapia de indução com medicações a base de anfotericina B (desoxicolato ou formulações lipídicas), número de punções lombares de alívio (punções necessárias para controle da hipertensão intracraniana, não contadas as punções para coleta de líquido para controle de cura se pressão já normalizada), adesão plena a itens de manejo dos pacientes com criptococose no sistema nervoso central (terapia de indução a base de anfotericina B, avaliação da pressão de abertura líquórica, punção de alívio nos pacientes com HIC, início dos ARV entre 4 e 6 semanas nos pacientes HIV positivos que não estavam em uso dos antirretrovirais). Variáveis clínicas de pior prognóstico a admissão hospitalar também foram colhidas como confusão, alteração do nível de consciência, coma, déficits neurológicos focais; para a análise de sobrevida foram colhidos dados de letalidade da doença em 2 e 10 semanas, com o tempo zero o dia da realização do exame que confirmou a criptococose.

### **3.2.6. Fonte e coleta dos dados**

Após a identificação dos pacientes com criptococose no período estabelecido no Distrito Federal, os dados foram coletados a partir do sistema

de atendimento (prontuário eletrônico) da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, chamado Trackcare, além do sistema Soul MV do IGESDF. A ferramenta utilizada para coleta destes dados foi um formulário criado pela Rede Criptococose Brasil (RCB), presente no FormSus (Anexo A).

### **3.2.7. Procedimentos analíticos**

Através das informações contidas nos formulários utilizados para a coleta das variáveis, foi construído o banco de dados no Microsoft Excel versão 365. Em seguida, foi realizada a análise exploratória, com obtenção das frequências das variáveis para a análise descritiva, cujos resultados foram apresentados sob forma de proporções, médias, desvio padrão, frequências relativas e absolutas nas tabelas e figuras.

As diferenças entre médias foram estimadas usando o teste t para dados normalmente distribuídos. O teste U de Mann-Whitney para amostras independentes quando os dados não apresentavam distribuição normal pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk que são utilizados pelo software IBM SPSS 21. Para comparação de proporções foi utilizado o teste do qui quadrado ou teste exato de Fisher quando menos de 5 eventos estavam presentes em alguma célula.

A análise de sobrevida (óbito) em 2 e 10 semanas foi estimada pelo método de Kaplan- Meier, tendo como tempo zero a data da coleta do material que identificou o fungo e as diferenças testadas por meio do teste de log-rank (Mantel-Cox). Todos os testes foram bicaudais e foram realizados no SPSS Statistics, versão 21.0 (IBM. CORPORATION, ARMONK, NY, EUA). Os dados foram analisados no nível crítico de decisão a 5%.

### **3.2.8. Aspectos éticos**

As informações obtidas dos prontuários foram mantidas em sigilo. Na realização desta pesquisa foi obedecida a Resolução 466 de 12 de

dezembro de 2012 do Conselho Nacional de Saúde. Este estudo faz parte um projeto de pesquisa que foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa da Fundação de Ensino e Pesquisa em Ciências da Saúde situada em Brasília, Distrito Federal e aprovado sob os pareceres de número 979.140 e 942.633, com registro na Plataforma Brasil – CAAE número 37904214.7.3001.5553.

#### 4. RESULTADOS

Foram avaliados 100 pacientes, os quais apresentaram uma média de idade de  $40,1 \pm 17$  anos, com esta sendo a única variável com distribuição normal. Os homens apresentaram uma idade média  $42,06 \pm 17$  anos e as mulheres  $35,61 \pm 14$  anos. Quando estratificados por faixa etária, as crianças e adolescentes de 0 a 18 anos representaram 10%, adultos jovens de 19 a 40 anos 42%, adultos de 41 a 60 anos 39% e pessoas com mais de 60 anos contando 9% do total, demonstrando a grande proporção de adultos com criptococose. A distribuição quanto ao gênero demonstrou que o sexo masculino representou 70% dos pacientes e o feminino 30%. (Tabela 1)

Cerca de 70% dos pacientes estavam no Distrito Federal (DF) quando do diagnóstico da criptococose. Goiás (GO) com 18% veio em seguida e 12% dos demais pacientes distribuídos nas mais distintas unidades da federação. Dados quanto a distribuição dos pacientes nos primeiros 5 anos de vida não foi obtida em 35% da amostra, com 29% com passado na região nordeste (NE), 26% centro-oeste (CO), 8% sudeste (SE) e 2% norte (N). (Tabela 1)

A tipagem molecular com URA5 foi realizada em 80 amostras de distintos pacientes, evidenciando *C. neoformans* em 69 (86,2%) e *C. gattii* em 11 (13,8%). Dos pacientes com *C. gattii*, 5 passaram os primeiros anos de vida no Nordeste, 1 norte e um centro oeste, os demais sem esta informação. O acometimento do sistema nervoso central foi observado em 89% dos pacientes, pulmonar 5%, cutâneo 3% e sanguínea 3%. (Tabela 1)

O SNC foi o sítio mais acometido tanto por *C. neoformans* com 63 pacientes quanto *C. gattii* em nove nas amostras com identificação da espécie, seguida do acometimento pulmonar com 4 pacientes e sanguíneo com 2 por *C. neoformans*, mas sem nenhum caso cutâneo, diferentemente de 2 casos cutâneos por *C. gattii*. (Figura 1)

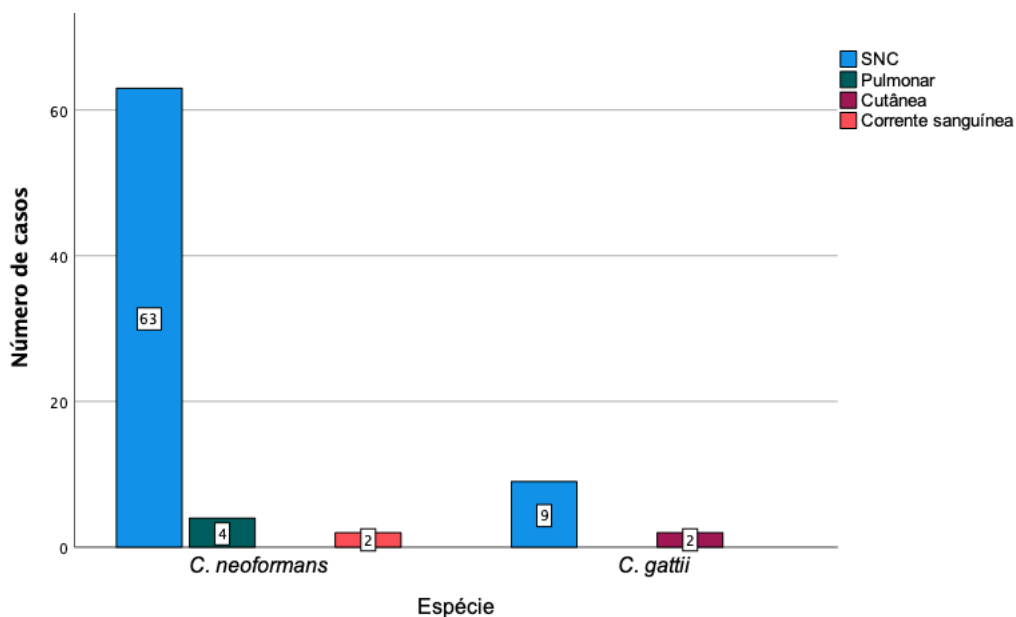
Tabela 1 - Características dos pacientes com criptococose

Idade; anos <i>n</i> 100	40,1 ± 17 (média ± desvio padrão)
Procedência na data do diagnóstico	70% DF; 18% GO; 12% outros estados
Vida na infância	26% CO; 2% N; 29% NE; 8% SE; 35% NI
Faixa etária; anos <i>n</i> 100	10% 0-18; 42% 19-40; 39% 41-60; 9% >60
Gênero <i>n</i> 100	70% masculino, 30% feminino
Complexo molecular <i>n</i> 80	69 (86,2%) <i>C. neoformans</i> , 11 (13,8%) <i>C. gattii</i>
Criptococose <i>n</i> 100	89% SNC; 5% pulmonar; 3% cutâneo; 3% sanguínea
HIV <i>n</i> 100	66% positivo 28% negativo, 6% não conhecido
CD4 <i>n</i> 51	49 células/mm <sup>3</sup> (mediana: 4 - 534)
Definidora de AIDS <i>n</i> 66	45,4% sim; 54,6% não
ARV em co-infectados; semanas <i>n</i> 23	< 2: 21,7%; 2 a 4: 26,1%; 5 a 6: 52,2%
Tempo sintomas ao tratamento; dias <i>n</i> 90	42,5 dias (Mediana: 0 – 318)
Hipertensão intracraniana <i>n</i> 100	41% sim; 15% não; 44% não avaliada
Pressão de abertura do líquido <i>n</i> 52	33,5 cm H <sub>2</sub> O (Mediana: 10 – 100)
Critérios de pior prognóstico <i>n</i> 100	55% sim; 31% não; 14% não informado
Letalidade em 2 semanas <i>n</i> 100	26,9%
Letalidade em 10 semanas <i>n</i> 100	38,7%

DF Distrito Federal; GO Goiás; CO Centro-Oeste; N Norte; NE Nordeste; SE Sudeste; NI Não informado; C *Cryptococcus*; SNC Sistema Nervoso Central; HIV human immunodeficiency virus, CD4 Linfócitos T CD4; AIDS acquired immune deficiency syndrome; ARV Antirretroviral *n* Número



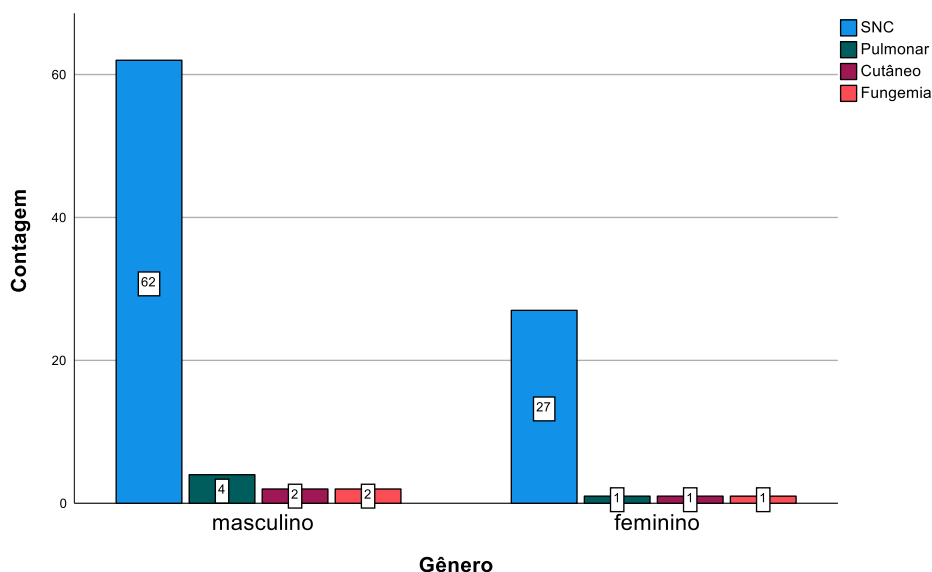
Figura 1 - Distribuição das espécies conforme espécime clínico



SNC: sistema nervoso central; valores absolutos

Todos os pacientes que apresentavam acometimento do SNC e outro órgão foram classificados dentro do espectro de acometimento neurológico, desta maneira, em cinco pacientes o fungo foi identificado no líquido e no sangue, um paciente a infecção estava presente no SNC e pulmão e em outro paciente houve acometimento neurológico, pulmonar e da pele. Em ambos os sexos, a apresentação neurológica teve maior representação. (Figura 2)

Figura 2 - Tipo de acometimento segundo gênero



SNC: sistema nervoso central; valores absolutos

Destes 100 pacientes, 94 foram submetidos a testagem para o HIV, com 66% da amostra com resultados positivos, negativo em 28% e 6 % não testados apesar da grande proporção desta infecção viral em pacientes com criptococose. Dos pacientes soropositivos, os valores da contagem de linfócitos T CD4 foram obtidos de 51, com uma mediana de 49 células/mm<sup>3</sup>, com valores variando de 4 a 534 células/mm<sup>3</sup>, demonstrando a importante imunossupressão dos pacientes quando do diagnóstico da criptococose (Tabela 1). Dos 15 pacientes sem CD4, a mediana de tempo do diagnóstico da criptococose até o óbito foi de 7 dias, com 8 pacientes com criptococose definidora de aids e 7 pacientes com diagnóstico de HIV já conhecido.

Nos 66 pacientes HIV positivos, esta doença viral já tinha sido previamente diagnosticada em 54,6% dos pacientes. Assim, a criptococose se comportou como doença definidora da imunossupressão em 45,4% destes pacientes. Dos 23 pacientes que estavam sem terapia antirretroviral na ocasião da criptococose, esta foi iniciada em menos de 2 semanas após o início do tratamento para criptococose em 5 (21,7%), entre 2 e 4 semanas em 6 (26,1%) e entre 5 e 6 semanas em 12 (52,2%). (Tabela 1)

Em 90 pacientes, a mediana de tempo entre o início dos sintomas e a prescrição do tratamento foi de 42,5 dias, porém com início imediato de

tratamento em alguns, assim como atraso de 318 dias após o diagnóstico em um paciente. Critérios de pior prognóstico foram observados em 55% dos pacientes deste estudo na admissão hospitalar, ausentes em 31% e sem tais informações em 14%. (Tabela 1)

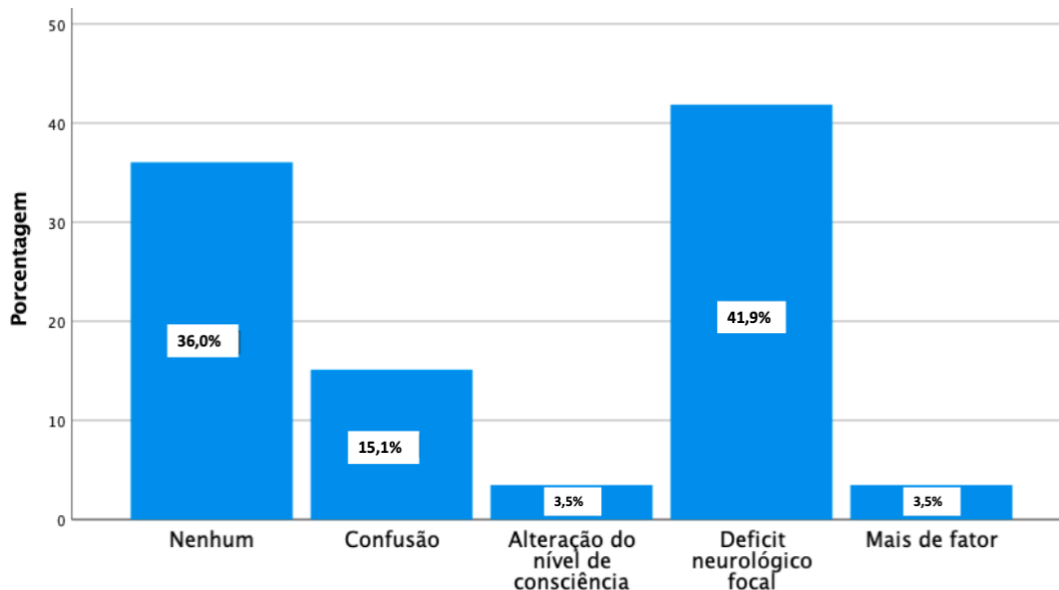
A hipertensão intracraniana foi diagnosticada em 41 (41%) pacientes da amostra, com 37 através da elevação da pressão de abertura liquórica e 4 por exames de imagem. Em 15 (15%) a pressão de abertura do líquor foi normal e em 44 (44%) pacientes a investigação da hipertensão não foi realizada. A pressão de abertura do líquor foi aferida em 52 pacientes e a mediana da pressão foi de 33,5 cm H<sub>2</sub>O, variando de 10 a 100 cm H<sub>2</sub>O as medidas. (Tabela 1).

O desfecho fatal foi avaliado em duas oportunidades, com uma letalidade em 2 semanas de 26,9% e em 10 semanas de 38,7%, mostrando a gravidade desta doença e a necessidade de rápido reconhecimento e manejo adequado. (Tabela 1)

Quando avaliada a letalidade em 10 semanas (70 dias), entre os 51 pacientes investigados quanto a presença de hipertensão intracraniana, não foi constatada diferença estatística entre pacientes que apresentavam ou não HIC ( $p = 0,752$ ; teste exato de fisher). Também, na avaliação da letalidade em 2 e 10 semanas conforme a espécie não foi constatada nenhuma diferença entre pacientes com *C. neoformans* ou *C. gattii* ( $p = 0,150$  e  $p = 0,497$ , teste exato de fisher, respectivamente). Dos 5 pacientes com acometimento pulmonar isolado 2 foram a óbito.

Dentre os pacientes que possuíam informações quanto a fatores de mal prognóstico na admissão, 41,9% apresentavam déficits neurológicos focais, 36,0% sem nenhum fator, 15,1% com confusão, 3,5% com alteração do nível de consciência e 3,5% com mais de um fator. (Figura 3)

Figura 3 - Fatores de mau prognóstico na admissão hospitalar

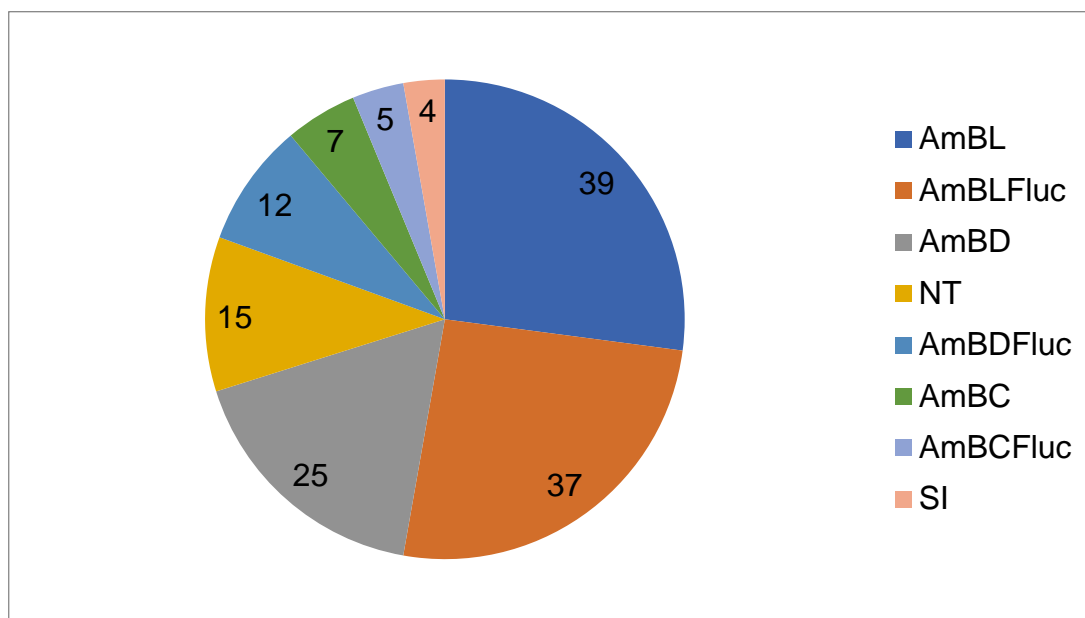


Neste estudo, 15 pacientes não chegaram a receber nenhum tipo de tratamento direcionado a esta infecção fúngica e 4 pacientes não possuíam informações suficientes para definir se foram ou não tratados. Destes pacientes, 13 são do sexo masculino e 6 femininos, 9 portadores de HIV, 4 soronegativos e 6 não foram testados quanto ao HIV. O SNC foi acometido em 11 oportunidades, pulmão em 5 com 3 óbitos entres estes, corrente sanguínea uma vez com paciente falecendo e em duas oportunidades a pele, com um óbito em paciente não devidamente investigado para doença disseminada. Destes pacientes sem evidências de tratamento, 12 foram a óbito, 3 sobreviveram e 4 não foram obtidas informações sobre este dado. A avaliação da pressão de abertura não foi realizada em 17 destes 19 pacientes.

Dos pacientes tratados, 37 receberam mais de um esquema terapêutico na fase de indução, neste contexto, das terapias instituídas, em 39 oportunidades a medicação utilizada foi anfotericina B lipossomal, em 37 anfotericina B lipossomal com fluconazol, 25 com anfotericina B desoxicolato, anfotericina B desoxicolato com fluconazol em 12 pacientes, a anfotericina B complexo lipídico foi utilizada em 7 pacientes e associada ao fluconazol em 5

pacientes (Figura 4). Dois pacientes receberam apenas fluconazol após descartado acometimento do SNC ou disseminado.

Figura 4 - Distribuição dos antifúngicos utilizados para tratamento



AmBL: anfotericina B lipossomal; AmBD: anfotericina B desoxicolato; NT: não tratado; AmBC: anfotericina B complexo lipídico; Fluc: fluconazol; SI: sem informação. Valores absolutos.

Dos 100 pacientes do estudo, 96 foram testados para HIV, com 54,5% dos homens e 41% das mulheres sendo soropositivos (Figura 5). Dos pacientes testados para esta doença viral, 75 possuíam espécimes isolados para identificação da espécie, com *C. neoformans* identificado em 52 isolados de pacientes soropositivos e em 14 soronegativos em contraste com apenas um isolado de *C. gattii* em paciente com HIV e em oito soronegativos (Figura 6).

Entre os pacientes soropositivos, a mediana de tempo entre o início dos sintomas de criptococose e o diagnóstico de HIV foi de 24 dias. Em alguns pacientes, o diagnóstico desta imunodeficiência foi realizado no mesmo dia das manifestações da infecção fúngica, porém em outros foram necessários 90 dias até a definição da imunossupressão relacionada a este vírus.

Figura 5 - Proporção de pacientes HIV positivos segundo gênero

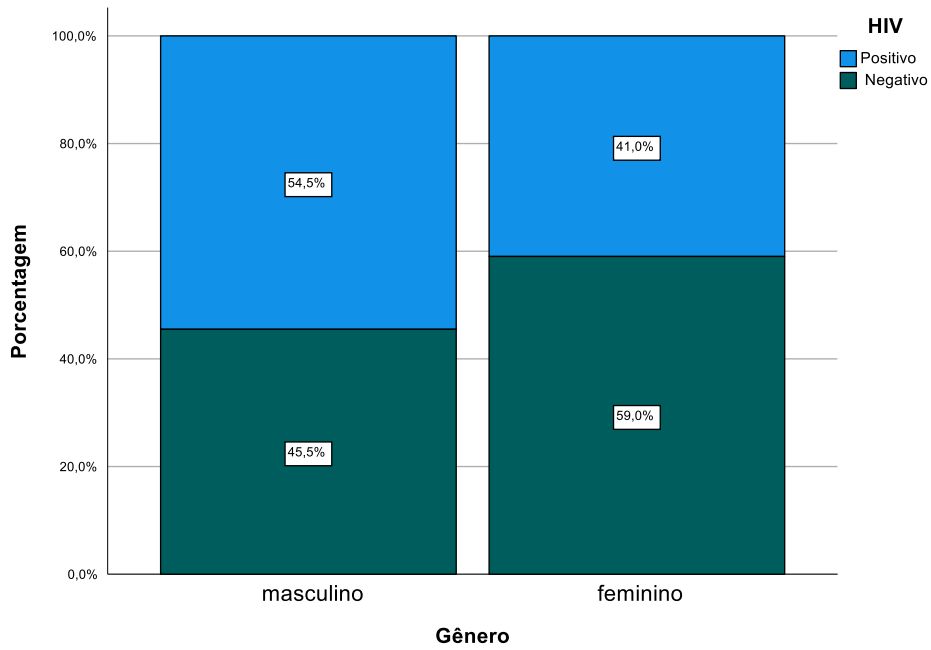
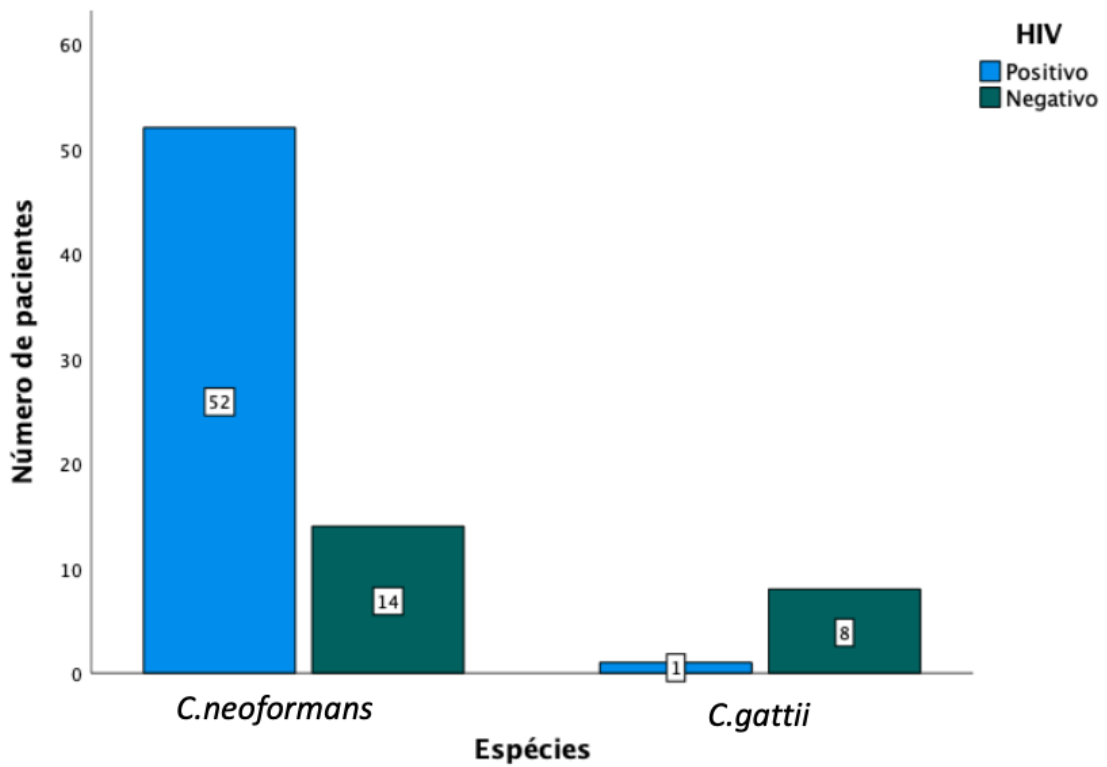
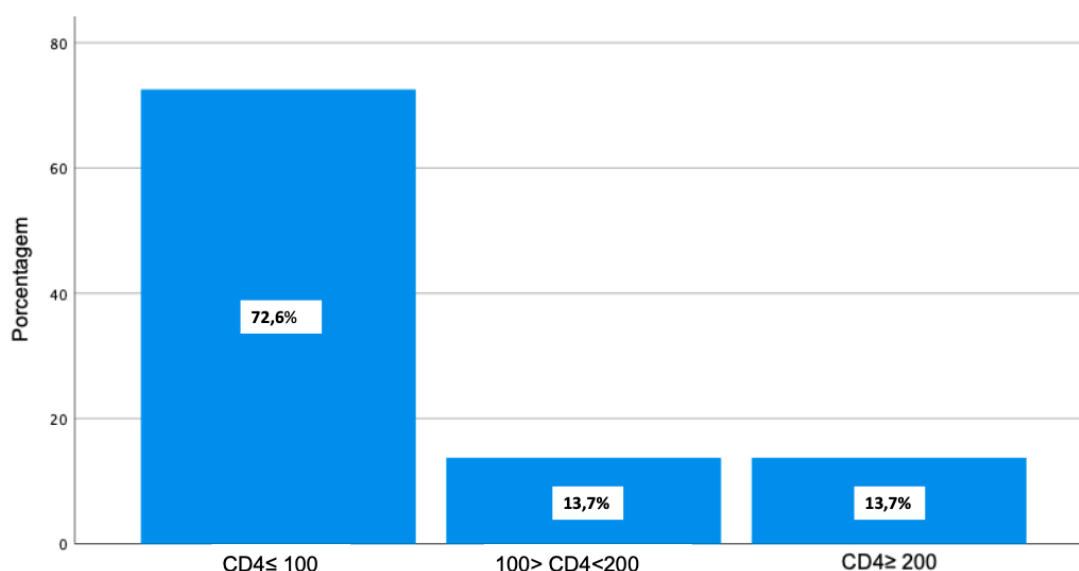


Figura 6 - Distribuição das espécies conforme status HIV



Dos 66 pacientes HIV positivos, o valor do CD4 estava disponível em 51, com 72,6% destes os valores abaixo de 100 linfócitos/mm<sup>3</sup>, 13,7% entre 100 e 200 linfócitos/mm<sup>3</sup> e na mesma porcentagem acima de 200 linfócitos/mm<sup>3</sup>. Os 15 pacientes sem CD4 não apresentavam nenhum resultado conhecido antes da criptococose, considerando um seguimento regular de um paciente soropositivo com coleta de exames a cada 6 meses ou posteriormente ao diagnóstico da infecção fúngica por mesmo intervalo de tempo. (Figura 7)

Figura 7 - Porcentagem dos casos conforme valores de CD4



Na avaliação estratificada, nem todos os pacientes testados para HIV apresentavam dados disponíveis para avaliação. Neste cenário, o sexo masculino representou a maioria dos casos em ambos os cenários, com 72,7% nos pacientes soropositivos e 60,7% nos soronegativos, porém sem significância estatística com  $p = 0,249$ . (Qui-quadrado; Tabela 2)

A média de idade nos 28 pacientes soronegativos para HIV foi de 39,50, variando desde uma tenra idade como 2 anos até um paciente com 73 anos de idade, contra 38,65 nos 66 soropositivos com os extremos sendo 17 e 66 anos, com  $p = 0,847$  sem significância após avaliação pelo teste t de student. (Tabela 2)

Dados quanto a hipertensão intracraniana e pressão de abertura líquórica estavam disponíveis em 51 pacientes testados para HIV. Nos pacientes com aferição da pressão de abertura, a hipertensão intracraniana estava presente em 69% dos 29 soropositivos e em 68,2% dos 22 soronegativos com  $p$  de 0,952 (Qui- quadrado de Pearson). A mediana da pressão foi elevada em ambos os cenários, com valores extremos registrados dos dois lados chegando até a 100 cmH<sub>2</sub>O, com mediana de 32 cmH<sub>2</sub>O nos pacientes com HIV e 33,5 naqueles sem esta infecção, com tal diferença sem significância estatística pelo teste de U de Mann-whitney, com  $p = 0,790$ . (Tabela 2)

Tabela 2 – Diferença entre pacientes HIV positivos e negativos

	HIV +	HIV –	$p$
Gênero (%masculino) $n$ 94	72,7%	60,7%	0,249
Idade, anos $n$ 94	38,65	39,50	0,847
HIC $n$ 51	69%	68,2%	0,952
Pressão de abertura, cmH <sub>2</sub> O $n$ 51	32	33,5	0,790
Tempo dos sintomas e o tratamento, dias; $n$ 87	35	46	0,034
Espécie $n$ 75 ( <i>C. neoformans</i> )	98,1%	63,6%	<0,001
Não aderência a recomendações $n$ 85 (SNC)	73,7%	41,6%	0,005
Letalidade 2 semanas $n$ 90	35,4%	7,1%	0,005
Letalidade 10 semanas $n$ 90	45,1%	21,4%	0,032

Dos pacientes com HIC, 18 foram submetidos a derivação ventricular para controle da hipertensão, destes 8 eram HIV positivos e 10 soronegativos. A mediana de tempo desde o diagnóstico de criptococose até a derivação foi de 26 dias, variando de um a 158 dias, com mediana de 42 dias nos pacientes soropositivos e 23,5 dias no soronegativos, para a realização do procedimento neurocirúrgico. Somente 3 pacientes foram submetidos a intervenção



cirúrgica com até 10 dias do diagnóstico da criptococose, com 8 pacientes levando pelo menos 35 dias até a abordagem cirúrgica para controle da HIC.

Na avaliação do tempo de início de sintomas até a indicação do tratamento, nos 87 pacientes com informações disponíveis, a mediana de tempo foi de 46 dias nos 27 soronegativos, chegando até 318 dias para o início do tratamento em um caso, superior ao tempo até o começo da terapia nos 60 soropositivos que foi de 35 dias, chegando até a 211, com  $p = 0,034$ , por U de Mann-whitney. (Tabela 2).

Dos pacientes testados para HIV e que possuíam definição da espécie do fungo, *C. neoformans* esteve presente em 98,1% dos 53 soropositivos e em 63,6% dos 22 soronegativos, com  $p < 0,001$  (teste exato de fisher), destacando a sua grande presença nos dois cenários com importante representatividade nos HIV positivos. (Tabela 2)

Nos 85 pacientes com envolvimento do SNC e definição do status da doença viral, a não adesão a recomendações de tratamento da neurocriptococose foi expressivamente maior nos 61 soropositivos, representando 73,7 % destes pacientes contra 41,6% dos 24 soronegativos, com  $p = 0,005$  pelo teste exato de fisher. (Tabela 2)

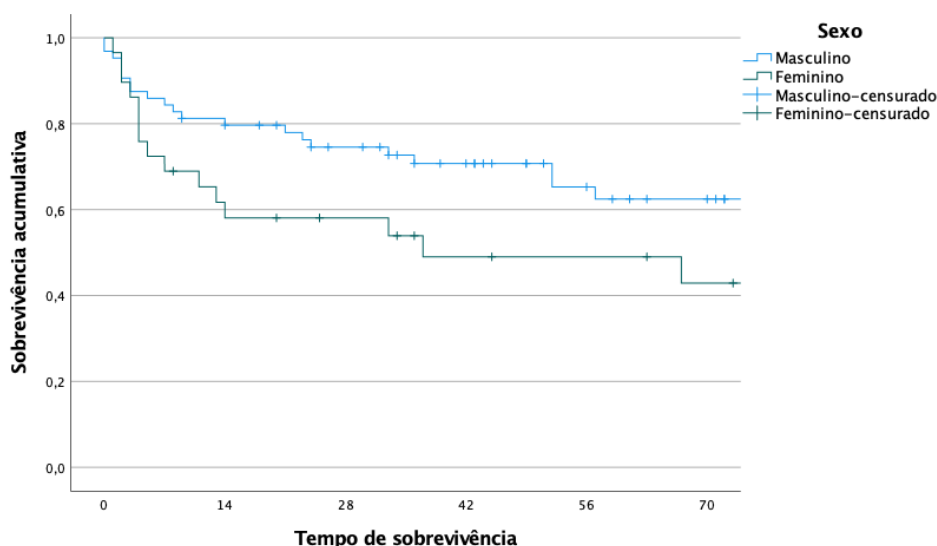
A letalidade em 2 e 10 semanas foi avaliada em 90 pacientes. Nos 62 HIV positivos, a letalidade em 2 semanas foi de 35,4% e nos 28 soronegativos de 7,1% com  $p = 0,005$  (teste exato de fisher). Já em 10 semanas de 45,1% e 21,4% respectivamente, com  $p = 0,032$  (Qui-quadrado de Pearson), com significância estatística nos dois cenários.

Na estratificação dos pacientes com definição do status HIV e acometimento do SNC, 83 pacientes foram avaliados quanto a letalidade em duas semanas, com valor de  $p$  no teste exato de fisher de 0,002 e em 10 semanas o valor de  $p = 0,047$  (Qui-quadrado de Pearson) com significância estatística em ambos os cenários.

Na análise de sobrevida, quando avaliamos a letalidade da criptococose em 70 dias após o diagnóstico com base no gênero dos pacientes, constata-se uma letalidade menor desta doença fúngica no sexo

feminino com 14 eventos que no masculino com 21 eventos, porém na análise em 10 semanas não houve diferença estatisticamente significativa com  $p = 0,073$  (Log Rank, Mantel-Cox) de letalidade entre os sexos nesta amostra. (Gráfico 1)

Gráfico 1 - Curva de sobrevida em 14 e 70 dias conforme gênero



Nos pacientes que foram testados para a infecção do vírus da imunodeficiência adquirida, a curva de sobrevida evidenciou uma letalidade maior nos pacientes HIV positivos com 28 eventos que nos soronegativos com 6 eventos com  $p = 0,016$  (Log Rank, Mantel-Cox) deixando clara a importância desta doença viral no contexto da criptococose. A forte curva na análise mostra uma acentuada letalidade da criptococose nos pacientes soropositivos nos primeiros 14 dias após o diagnóstico da doença. (Gráfico 2)

A avaliação de sobrevida em 70 dias entre pessoas soropositivas não mostrou significância estatística,  $p = 0,84$  (Log Rank, Mantel-Cox) entre pacientes já portadores de HIV e aqueles recém diagnosticados com AIDS. Em ambos os cenários, a letalidade foi aguda nos primeiros 14 dias após o diagnóstico da criptococose. (Gráfico 3)

Gráfico 2 - Curva de sobrevida em 14 e 70 dias conforme status HIV. Somente pacientes testados para HIV foram incluídos.

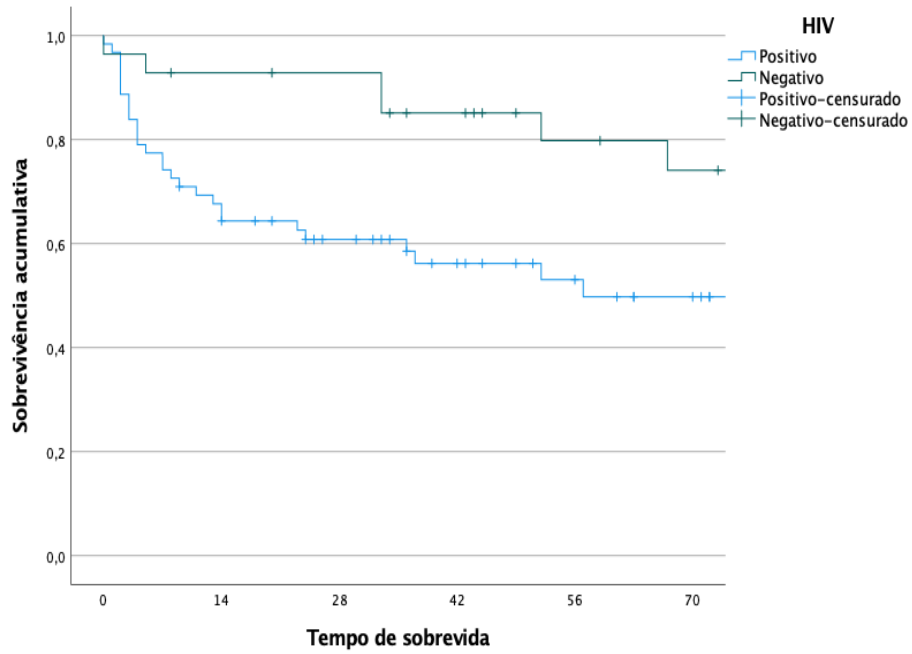
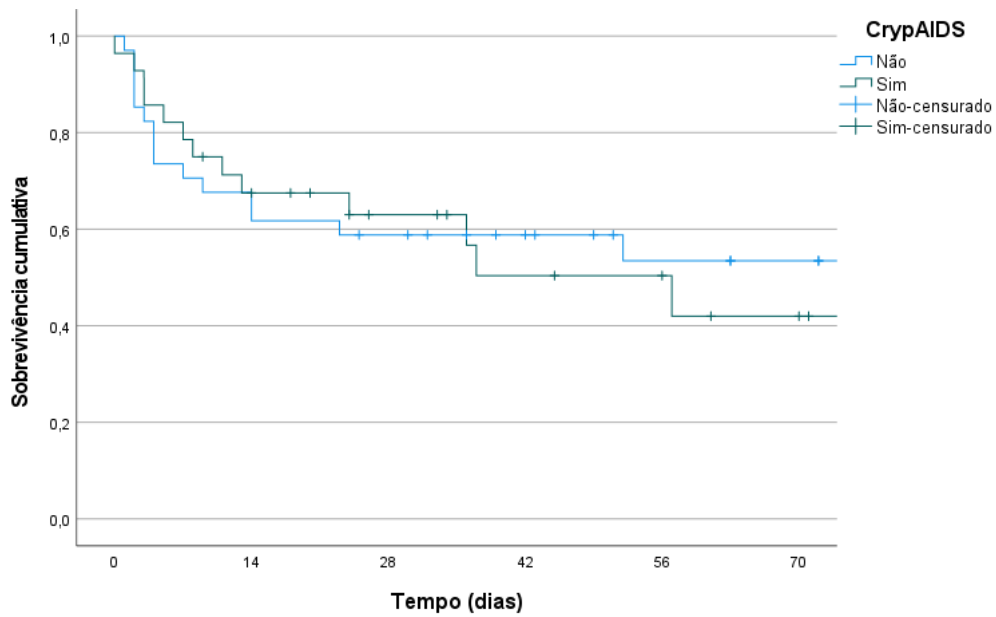


Gráfico 3 - Curva de sobrevida em 14 e 70 dias entre pacientes com criptococose como doença definidora de imunossupressão pelo HIV



## 5. DISCUSSÃO

Neste estudo, a média de idade dos pacientes foi de 40 anos, como idade levemente superior no sexo masculino. A estratificação em grupos destaca o grande acometimento de pessoas em idade economicamente ativa em ambos os sexos e independentemente do status sorológico para o HIV, dados semelhantes aos que foram observados nos 12 primeiros anos deste século no Brasil (Alves Soares, 2019).

Houve um grande predomínio do acometimento do sexo masculino, entretanto, aparentemente não há registros de predileção da criptococose por um dos gêneros e não foram evidenciadas diferenças estatísticas neste estudo quanto a maior acometimento da infecção pelo HIV conforme sexo. Porém, em um estudo, nas mulheres, a presença de doenças autoimunes foram fatores de risco independente para a criptococose (Zheng, 2016).

Aproximadamente 70% dos pacientes do estudo eram procedentes do Distrito Federal com menos de 20% de Goiás e o restante de outras unidades da Federação, com a maioria destes pacientes com passado de vida na região nordeste e centro-oeste do país, mas com 35% de dados ausentes nos registros obtidos. A região norte, endêmica para fungos do gênero *Cryptococcus* spp. contou com apenas 2% de pacientes com histórico de vida nesta região (Alves- Soares, 2019; Correa pinheiro, 2019). A grande ausência de dados não permite uma avaliação mais precisa dos primeiros anos de vida dos pacientes deste estudo.

A avaliação molecular destacou a importante presença de *C. neoformans* na amostra, mantendo a predileção do fungo também pelo acometimento neurológico como esperado, visto ser a principal manifestação desta doença (Alves Soares, 2019).

Apesar de ser uma infecção adquirida por inalação poucas foram as infecções pulmonares nestes amostra, assim como nos demais sítios. Este fato pode representar falta de conscientização sobre esta doença e conseqüentemente uma investigação limitada diante do acometimento cutâneo, sanguíneo e pulmonar, visto que a infecção disseminada, ou seja, presente em mais de um sítio pode ocorrer, como visto em 7 pacientes neste estudo e a presença de cultura positiva além do SNC são associadas a menor sobrevida (Robinson, 1999).

A apresentação cutânea pode ser polimórfica e a primeira manifestação da criptococose, entretanto deve ser interpretada como um gatilho para investigação de outros sítios como foco pulmonar, que também mostra distintas apresentações, o mesmo devendo ocorrer na criptococcemia (Carrasco-Zuber, 2016; Noguchi, 2019; Sloan, 2014).

A associação da criptococose com HIV continua forte, com dois terços deste estudo representado por pacientes soropositivos, mas destacando um terço sem esta coinfeção e a necessidade de conscientização dos profissionais para tal fato, já que países de alta renda têm visto um impacto crescente da doença entre hospedeiros não imunocomprometidos pelo HIV, podendo estes pacientes representar até 50% dos casos (Henao-Martínez, 2018). Apesar destes fatos, 6% dos pacientes não foram testados para HIV o que reforça a importância da disseminação do conhecimento a cerca da criptococose e dos fatores de risco associados a estas infecções.

Nem todos os pacientes foram submetidos a terapia específica para a doença fúngica, visto reconhecimento tardio da doença e falta de tempo hábil para início da medicação.

Nos pacientes submetidos ao tratamento da infecção fúngica, a mediana de tempo desde o início dos sintomas até a indicação da terapia direcionada foi de 42,5 dias, podendo ser este um dos fatores associados a elevada letalidade da meningite criptocócica, juntamente com suspeita tardia da

doença, atraso no diagnóstico, dificuldade de acesso aos serviços de saúde e a testes para diagnóstico rápido da doença, assim como antifúngicos indisponíveis ou inadequados (Alves Soares, 2019; Qu, 2017; Yoon, 2020).

Na admissão, 55% dos pacientes apresentavam fatores de pior prognóstico, como déficits neurológicos focais e confusão mental, situações associadas a hipertensão intracraniana que evidenciam o quão tarde estes pacientes estão sendo diagnosticados e como tais fatos podem influenciar o desfecho destes pacientes (Nascimento, 2016).

Nos soropositivos constatou-se uma mediana de valores de CD4 de 49 células/mm<sup>3</sup>, com mais da metade destes pacientes já sabidamente portadores de HIV e nos outros com a criptococose se comportando como doença definidora de AIDS. Entretanto, com ambos os lados se apresentando com importante imunossupressão, destacando o diagnóstico tardio do HIV e a falta de adesão nos pacientes já cientes desta doença viral. Desta maneira, o diagnóstico precoce do HIV, início oportuno dos ARV e consequente recuperação da imunidade, fortalecimento da adesão aos ARV evitando-se o abandono e recrudescimento da imunossupressão celular são elementos fundamentais para prevenção da infecção criptocócica (Boyer-Chammard, 2019; Yoon, 2020).

Outro dado importante, é que nos pacientes soropositivos com diagnóstico recente do HIV, em metade destes os ARV foram iniciados antes de 4 semanas após o início do tratamento para neurocriptococose o que pode estar associado a pior prognóstico neste contexto, devendo, segundo a OMS 2018, ser iniciada entre 4 e 6 semanas após a introdução dos antifúngicos, visando desta forma evitar a síndrome inflamatória de reconstituição imune criptocócica que ocorre em 15 a 20% dos pacientes após início dos ARV, habitualmente diagnosticada em torno de 30 a 60 dias após a introdução dos antirretrovirais (Boyer-Chammard, 2019).

Apesar da principal manifestação da criptococose ser neurológica e o manejo e reconhecimento da hipertensão intracraniana, corriqueiramente presente nestes casos, ser fundamental, neste estudo 44% dos pacientes não foram avaliados quanto a HIC.

A elevada pressão de abertura inicial está relacionada a alta carga fúngica quantitativa no liquor e aumento da letalidade. Desta maneira, o manejo agressivo da hipertensão intracraniana na meningite criptocócica associada ao HIV traz benefícios clínicos incluindo na sobrevida. É importante destacar que pressão intracraniana elevada pode estar presente mesmo na ausência de sintomas neurológicos evidentes, o que pode ocorrer em pacientes com grave imunossupressão pela AIDS. Desta maneira, a aferição da pressão de abertura liquórica é fortemente recomendada em pacientes com suspeita de criptococose. (Skipper, 2019; Wu, 2019).

A gravidade da hipertensão intracraniana pode ser vista na elevada mediana da pressão de abertura dos casos avaliados, chegando a 33,5 cm H<sub>2</sub>O, explicando as manifestações observadas na admissão como déficits neurológicos, convulsões e até coma. Diante da gravidade destas apresentações e da importante presença da hipertensão nesta infecção fúngica, o reconhecimento precoce da criptococose e desta complicação frequentemente associada são fundamentais no manejo adequado, com punções lombares de alívio para controle da pressão e em casos de difícil controle procedendo à derivações liquóricas, que auxiliam na diminuição da hipertensão, além da drenagem de antígenos fúngicos no SNC (Corti, 2014; de Vedia, 2013).

A HIC é reconhecida como um importante fator de risco para desfechos desfavoráveis nos pacientes com neurocriptococose, por esta razão quando as punções de alívio não são capazes de resolver esta questão, derivações liquóricas são opções neste cenário, e segundo o consenso em criptococose de 2008, ratificado no PCDT 2018, após 10 dias de punção lombar diária o

pacientes deve ser submetido a derivação, o que só ocorreu em 3 de 18 pacientes submetidos a neurocirurgia com mediana de tempo mais prolongada até a intervenção nos pacientes soropositivos, o que pode estar associado a falta de consciência quanto ao manejo da HIC pelos profissionais (Moretti, 2008; Longley, 2008; PCDT, 2018).

Neste contexto, a implementação e disseminação do uso de ferramentas como teste rápido criptocócico em pacientes com quadros neurológicos de possível natureza infecciosa é fundamental em serviços de assistência a saúde.

A tecnologia, CrAg LFA, de fácil manejo e estoque, já é recomendada pela OMS de longa data no contexto de pacientes com AIDS e CD4 inferior a 100 células/mm<sup>3</sup>, visto que possui elevada sensibilidade e especificidade, assim, tal exame deve fazer parte da investigação de doenças neurológicas visto que neste estudo assim como em outros, boa parte dos pacientes com neurocriptococose são negativos para HIV (Kabanda, 2014; Trachtenberg, 2007).

Desta maneira, a triagem para meningite criptocócica em pacientes com AIDS avançada combinada com um curto período de acompanhamento intensivo para garantir adesão é provavelmente economicamente favorável e recomendada no Brasil e custo efetiva em alguns contextos da África. Entretanto, continua baixa a associação do rastreamento com CrAg e terapia preemptiva com fluconazol, como observado na capital federal onde o teste rápido está centralizado no LACEN e não nas emergências médicas (Kimaro, 2020).

A gravidade desta doença pode ser quantificada pela letalidade observada em 10 semanas de 38,7% após o diagnóstico neste estudo. Em cenários com limitado acesso a tecnologias e medicações, com na África subsaariana que possui elevada incidência da criptococose a letalidade varia de 50-60%, já nos EUA e Europa Ocidental, regiões com baixa incidência a letalidade varia de



10-30% (Sawadogo, 2016; Rajasingham, 2012) e no Brasil de 45 a 65 % (Alves Soares, 2019).

Entre os pacientes que foram submetidos ao tratamento direcionado para a criptococose, a anfotericina B e suas formulações lipídicas foram utilizadas pela maioria dos pacientes, associadas ou não ao fluconazol conforme recomendações nacionais e internacionais, sem evidências do uso isolado do fluconazol. Este azol é uma medicação segura, com boa disponibilidade oral e excelente penetração no SNC, além de possuir poucas interações medicamentosas, porém, o itraconazol não deveria ser utilizado para tratamento de infecções no SNC na fase de indução visto a má absorção e limitada penetração no SNC (Boyer-Chammard, 2019; Hope, 2019; Mourad, 2018).

Nenhum paciente fez uso de flucitosina neste estudo, visto que esta medicação na ocasião não era disponível no Brasil, entretanto, no ano de 2022 esta medicação passou a ser disponibilizada pela rede pública de saúde brasileira (BRASIL, 2022).

O fluconazol tem excelente ação *in vitro* e *in vivo* contra *Cryptococcus* spp. Em monoterapia com altas doses como 800 a 1200 mg/dia está associada a baixa depuração fúngica no líquido e resultados clínicos subótimos quando comparada a tratamentos à base de anfotericina B ou quando em combinação com flucitosina, porém não é capaz de prevenir rápido surgimento de resistência (Hope, 2019; Zhao, 2018).

Assim, manter alta dose de fluconazol nas primeiras duas semanas e até o início dos ARV pode reduzir o risco de desenvolver resistência e melhorar os resultados. Entretanto, altas doses de fluconazol 1600 a 2000 mg/dia são tóxicas, podendo levar a confusão, letargia, desorientação, pesadelos e alucinações (Longley, 2008; Anaissie, 1995; Mourad, 2018).

Neste estudo, habitualmente fase de indução foi de no mínimo 14 dias com possibilidade de extensão conforme evolução clínica. A avaliação por cultura de fungos no Líquor ao final das duas semanas deve ser realizada visando a esterilização do líquor através de sua negativação, assim, permitindo a redução da dose do fluconazol de 800 mg ao dia para 400mg, ou seja, de uma dose fungicida para fungistática. Deve-se ter em mente que, caso a cultura ao final destes 14 dias ainda esteja positiva, deve-se manter a dose de 800 mg dia de fluconazol com posterior avaliação da esterilização do líquor se possível a cada 7 dias (Skipper, 2019).

Estes resultados subótimos são correntemente atribuídos a ação fungistática do fluconazol, porém uma parte deste insucesso está associada ao surgimento de resistência no curso do tratamento, seja por cepas com heterorresistência antes do tratamento e persistência ou expansão destas cepas após a morte das cepas susceptíveis ou mesmo por emergência de resistência direta ao fluconazol com a terapia prolongada (Hope, 2019; Grossman, 2017).

Desta maneira, a associação com flucitosina ou anfotericina B são opções para se limitar as baixas taxas de sucesso e a emergência de resistência deste fungo ao fluconazol. Nesta heterorresistência, existe uma subpopulação dos fungos (<1%) que mesmo na ausência do fluconazol apresentam resistência, assim, ocorre um aumento ou persistência desta subpopulação quando da exposição a esta droga que leva a morte das cepas suscetíveis (Hope, 2019; Grossman, 2017).

Pacientes com meningite criptocócica imunocomprometidos que foram tratados, permanecem em risco de recidiva até conseguirem uma reconstituição de sua imunidade, desta maneira a manutenção de fluconazol 200 mg/dia mostra-se adequada neste período, podendo a anfotericina B 1 mg/kg/semana ou itraconazol 200 mg/dia serem esquemas alternativos,

porém com taxas de recorrência mais altas quando comparados ao fluconazol diário na longa fase de manutenção (Skipper, 2019; Sloan, 2014).

Nos pacientes HIV com meningite criptocócica tratados que apresentam recidiva sintomática após o início dos ARV, torna-se fundamental descartar a não adesão a terapia de manutenção com fluconazol ou a não prescrição do fluconazol nesta fase. Procurar diagnósticos alternativos, mesmo que raros, como meningite criptocócica e tuberculosa concomitante, outras doenças sistêmicas e nos pacientes com sintomas neurológicos, proceder à punção lombar e aferição da pressão de abertura liquórica além de reindução com anfotericina B e fluconazol em altas doses, até a confirmação negativa da cultura de fungos no liquor ou diagnóstico alternativo estabelecido são fundamentais. Esta forma de SIRS criptocócica é conhecida como paradoxal, podendo ocorrer em até 25% dos pacientes. (Longley, 2013; Skipper, 2019; Wu, 2019).

Se o liquor for estéril, a terapia de manutenção deve ser reintroduzida ou mantida. Os ARV não devem ser suspensos neste cenário citado. Se o paciente mantém deterioração clínica apesar das medidas acima instituídas e sem nenhum diagnóstico alternativo instituído, especialmente se liquor estéril, prednisolona 0,5 a 1 mg/kg dia ou dexametasona em doses elevadas, se graves sintomas neurológicos, podem ser instituídos, com redução gradual da dose entre 2 e 6 semanas. Pacientes sem manifestações graves podem ser conduzidos de forma conservadora e pacientes com meningite criptocócica desmascarada devem ser manejados como qualquer outro caso de meningite criptocócica (Longley, 2013; Yoon, 2020).

Neste estudo, nenhuma SIRS paradoxal foi presenciada. Para prevenção desta situação, a introdução de uma terapia antifúngica eficaz, com redução da carga fúngica liquórica, estendendo a fase de indução do tratamento com o intuito de se conseguir a menor carga de fungos no SNC e consequente

atraso no início dos ARV são condutas a serem adotadas nos pacientes com AIDS (Wu, 2019).

Assim, um aprofundamento sobre as possíveis condições associadas a elevada letalidade no contexto deste estudo, a qual foi próxima a 40% em 10 semanas, requerem uma avaliação mais minuciosa visto o acesso a melhores condições sanitárias e medicações que outras regiões do globo com taxas mais elevadas que contam com atraso no diagnóstico, dificuldade de acesso a medicações e limitação no manejo de hipertensão intracraniana (Rajasingham, 2019).

Apesar da elevação do número de casos de criptococose com o advento da AIDS a alta letalidade desta associação e o manejo diferenciado quando desta coinfeção, 6 pacientes não foram testados para HIV neste estudo. Dentre os testados, os homens foram maioria entre os soropositivos e as mulheres entre os soronegativos, podendo condições como lúpus e doenças autoimunes serem fatores de risco para este gênero no contexto da criptococose (Coelho, 2016; Zheng, 2016).

Em 75 pacientes testados para HIV, houve definição da espécie do *Cryptococcus* spp. com marcado acometimento por *C. neoformans* nos pacientes soropositivos e *C. gattii* nos soronegativos, demonstrando o comportamento oportunista dos *C. neoformans* na população imunossuprimida por esta doença viral conforme outros estudos. Importante salientar que o teste de antígeno criptocócico no soro ou líquido cefalorraquidiano, assim como a microscopia, não são capazes de diferenciar entre *C. neoformans* ou *C. gattii* (Prattes, 2016; Alves Soares, 2019; Vidal, 2020; Diaz, 2020).

As espécies de *C. gattii* apresentam CIM mais elevados para azóis do que *C. neoformans*, entretanto, a terapia direcionada aos pacientes com criptococose ainda não leva em consideração a diferença entre espécies. Outro ponto importante diz respeito à heterorresistência, ou seja, a

capacidade de adaptação a altas concentrações das drogas, que se observa em relação ao itraconazol e fluconazol, mantendo susceptibilidade à anfotericina B. As alterações fenotípicas relacionadas a heterorresistência são a diminuição do tamanho da célula e da cápsula, baixo teor de ergosterol na parede celular, menor susceptibilidade ao estresse oxidativo e grande capacidade de proliferação no interior dos macrófagos. Este mecanismo está presente nos *C. neoformans* e *C. gattii* e pode estar relacionado a recidiva na criptococose durante a fase de manutenção da terapia (Herkert, 2017; Silva, 2012).

A imunossupressão associada ao HIV foi considerável nos 66 pacientes soropositivos, com 72,55% destes pacientes com importante déficit de imunidade, com contagem de CD4 abaixo de 100 células/mm<sup>3</sup>, um perfil que se encaixa nas recomendações de triagem da criptococose antes do início dos ARV visando reduzir a possibilidade de neurocriptococose desmascarada após início desta terapia (Wake, 2020; Kimaro, 2020)

Esta quantidade expressiva de pacientes com baixa contagem de CD4, principalmente inferior a 100 células/mm<sup>3</sup>, pode refletir o diagnóstico tardio da infecção pelo HIV ou baixa adesão de longa data a terapia antirretroviral nos pacientes com o status sorológico já previamente definido, evidenciando a necessidade de maior conscientização da população e dos profissionais de saúde sobre ambas as doenças (Boyer-Chammard, 2019; Rajasingham, 2019; Yoon, 2020).

No entanto, mesmo com testagem do CrAg, um exame de elevada sensibilidade e especificidade, um antígeno criptocócico sérico de triagem negativo pode não excluir doença do SNC em uma pequena porcentagem de pacientes, como aqueles submetidos a grande imunossupressão como transplantados de órgãos sólidos. Desta forma, havendo alta suspeição de infecção do SNC, um antígeno criptocócico do LCR deve ser medido a fim de

se descartar neurocriptococose (Baddley, 2019; Skipper, 2019; Kabanda, 2014).

Nesta amostra de pacientes, o sexo masculino representou a maioria dos casos independente do status sorológico para HIV, também com maior número dos pacientes soropositivos, assim como a idade média foi superior nestes quando avaliados apenas os pacientes submetidos a testagem sorológica para a doença viral, mas sem significância estatística.

Apesar de 89 pacientes apresentarem quadro de neurocriptococose, somente 51 foram avaliados quanto a hipertensão intracraniana, com ambos os lados apresentando elevada mediana de pressão de abertura liquórica mas sem diferença entre HIV positivos e negativos, com hipertensão identificada em quase 70% destes pacientes, evidenciando a gravidade da indefinição deste quadro nos pacientes com criptococose como ocorreu em grande parte dos pacientes deste estudo, já que o controle da HIC faz parte da tríade de manejo desta infecção fúngica, juntamente com terapia antifúngica efetiva e cuidados de suporte (Skipper, 2019).

Assim, fica evidente a necessidade de conscientização dos médicos quando a significância clínica da dor de cabeça em pacientes com possível quadro avançado de AIDS, com rápido encaminhamento destes pacientes para cuidados especializados, com início de terapias específicas para doença criptocócica além de triagem para esta doença em suas formas subclínicas, as quais mesmo com uso de fluconazol de forma preemptiva mostram elevada letalidade. Diante destes fatos, sugere-se ajustar a terapia antifúngica em pacientes com CrAg positivo no soro, diante da possibilidade de uma meningite criptocócica ainda não evidente com a testagem liquórica, principalmente em pacientes com títulos sorológicos elevados (>1:640), com extensão da terapia preemptiva para 10 semanas, ou acréscimo de flucitosina de forma adjuvante ao fluconazol ou associação de dose única de 10 mg/kg de anfotericina lipossomal (Longley, 2008; Rajasingham).

Neste estudo quase um terço dos casos foram em pacientes soronegativos, o que deve servir de alerta quanto a presença da criptococose fora do contexto do HIV como visto em outros estudos, destacando a necessidade de conscientização dos profissionais de saúde quanto a tal fato visando não atrasar o diagnóstico da criptococose nos pacientes soronegativos como ocorreu na amostra avaliada de forma estatisticamente significativa o que pode levar a elevadas taxas de letalidade (Henao-Martínez, 2018).

Desta forma, é aconselhável que o manejo da criptococose em pacientes não HIV seja multidisciplinar, com envolvimento do especialista em doenças infecciosas no cuidado, o que pode reduzir a letalidade, visto a necessidade de avaliar a presença de complicações neurológicas como envolvimento do parênquima cerebral (criptocomas), o grau subjacente de imunossupressão, resposta dos sintomas e esterilização da cultura em 2 semanas são fundamentais antes de se determinar a duração ideal da fase de indução (Henao-Martínez, 2018; Sloan, 2014).

A criptococose oportunista é primariamente causada pelo *C. neoformans*, o principal agente encontrado nos pacientes soropositivos, como pode ser atestado neste estudo diante da elevada proporção desta espécie nos pacientes com HIV, apesar da predominância do *C. neoformans* também nos pacientes soronegativos (Prattes, 2016; Kim, 2016).

O manejo da criptococose visa o reconhecimento precoce, a definição da presença da hipertensão intracraniana, seu controle e tratamento da infecção fúngica principalmente com drogas fungicidas a base de anfotericina B, com tais condutas fundamentais e embasadas em recomendações nacionais e internacionais visando os melhores resultados aos pacientes e menor mortalidade (Skipper, 2019; Jarvis, 2014).

Neste estudo, a não adesão a tais medidas foram estatisticamente significantes e expressivas em pacientes soropositivos, o que não era

esperado visto guidelines que orientam o manejo da neurocriptococose em pacientes com HIV, reforçando a necessidade de disseminação do conhecimento ligado a esta doença assim como a importância de um especialista em doenças infecciosas para auxiliar o manejo (WHO, 2011; PCDT, 2017; WHO, 2018).

A letalidade observada foi superior e estatisticamente significativa nos soropositivos tanto em duas quanto em dez semanas, seja em toda amostra dos pacientes ou apenas naqueles com acometimento do sistema nervoso central, com elevada letalidade em duas semanas nos pacientes com aids diante do provável manejo inadequado e a gravidade da doença (Pappalardo, 2003; Jarvis, 2014).

A análise de sobrevida evidenciou maior quantidade de eventos no sexo masculino que no feminino, porém sem significância estatística em 10 semanas quanto ao gênero. Também não apresentou significância quando avaliada a sobrevida entre pacientes já portadores de HIV e aqueles recém diagnosticados, possivelmente devido a grande imunossupressão que todos se encontravam, o que destaca a importância de ações para diagnóstico precoce do HIV assim como para a manutenção da adesão aos ARV, o que pode ajudar a reduzir a quantidade de casos e a letalidade desta infecção fúngica associada a AIDS como visto em outros países (Sloan, 2014; Nguyen, 2010; Rajasingham, 2019).

Na análise de sobrevida avaliando a letalidade entre pacientes com HIV ou não, observou-se um maior número de eventos em pacientes soropositivos, além de acentuada curva nos primeiros 14 dias após o diagnóstico destacando a gravidade desta associação quando comparada a pacientes soronegativos com valor demonstrando clara significância estatística. Desta maneira, melhorias nas intervenções precoces poderiam prevenir este desfecho, podendo estas mortes precoces serem atribuídas primariamente à meningite criptocócica. (Jarvis, 2014).



Apesar do grande número de pacientes com criptococose soronegativos como já observado em outros locais (Henaó-Martínez, 2018), ainda foi maior a presença desta infecção fúngica nos pacientes soropositivos, com ênfase no acometimento no SNC como esperado (Pappalardo, 2003), destacando a importância da incorporação de novas tecnologias para o diagnóstico da criptococose nos pacientes com HIV como recomendado (WHO, 2011; WHO, 2018; PCDT, 2017).

Neste cenário se encaixa o CrAg LFA nos pacientes com AIDS e CD4 abaixo de 100 células/mm<sup>3</sup> já que esta ferramenta pode prever a meningite criptocócica em até 22 dias nos pacientes soropositivos, permitindo a partir de tal fato avaliar precocemente o envolvimento neurológico e assim definir a conduta, seja pelo tratamento da neurocriptococose ou terapia preemptiva nos pacientes sem acometimento do SNC, já que este exame é uma opção confiável para confirmar ou excluir o acometimento neurológico mesmo nos pacientes com este teste positivo no sangue (Meya, 2010; Rajasingham, 2019; Kabanda, 2014).

Assim, diante do grande potencial para desfechos indesejados da criptococose faz-se fundamental a presença de métodos diagnósticos práticos, de fácil acesso e com rápido resultado, juntamente com disponibilidade das terapias preconizadas para as distintas fases do tratamento. Limitações de acesso as tecnologias ligadas ao manejo da criptococose permitem desfechos muito aquém do desejado, comprometendo o resultado final num momento em que esta infecção fúngica vem apresentando aumento em populações imunossuprimidas não portadoras de HIV, como pacientes transplantados de órgãos sólidos, portadores de imunodeficiência inata, distúrbios imunológicos evidentes ou aparentemente normais, assim como pessoas em uso de imunossupressores (Corrêa Pinheiro, 2019; Henaó-Martínez, 2018; Zhao, 2018).

Desta maneira, frente a associação da criptococose oportunista com deficiência da imunidade celular presente nos pacientes com AIDS e imunossuprimidos não portadores de HIV, estratégias como a disseminação do uso de ARV e controle da carga viral, assim como manejo das drogas imunossupressoras podem ajudar a melhorar o prognóstico de alguns destes pacientes, não se esquecendo o risco de SIRS quando da restauração da imunidade nestes pacientes (Coelho, 2016; Gullo, 2013; Kim, 2016; Prattes, 2016).

Nos pacientes imunocompetentes, a meningite criptocócica tende a ser uma manifestação incomum, podendo estes pacientes terem sido expostos a um alto inóculo ou cepa mais virulenta do fungo, ou até mesmo possuírem uma condição imunológica subjacente (doença reumatológica, neoplasia etc.) ainda não descoberta, situação que requer uma investigação mais aprofundada a fim de ser elucidada. Neste cenário, o *C. gattii*, habitualmente acomete preferencialmente indivíduos imunocompetentes como pode ser observado também neste estudo, entretanto, a presença desta espécie como agente infeccioso é possivelmente subestimada visto que muitos laboratórios não realizam a correta identificação das espécies. (Graybill, 2000; Coelho, 2016; Sloan, 2014).

Para melhorar o prognóstico sombrio de pacientes com meningite criptocócica, principalmente relacionada à AIDS, uma terapia antifúngica inicial mais eficaz é necessária para diminuir a proporção de pacientes que morrem nas primeiras 2 semanas de tratamento como verificado neste estudo, além de aumentar a proporção de pacientes com culturas negativas no líquido ao final deste período, já que pacientes com líquido negativo no 14º dia tem 5 vezes menor chance de falha ao tratamento na semana 10 quando comparados aqueles com cultura positiva na mesma ocasião em pacientes sob condições semelhantes (Nascimento, 2016; Robinson, 1999).

Fato semelhante pode ser observado nos pacientes em que o status da cultura não foi definido com duas semanas de tratamento, os quais também apresentam pior prognóstico com 10 semanas de seguimento. Assim, o rápido diagnóstico, instituição de terapia adequada e manejo dos eventos adversos ligados a doença e às medicações são fundamentais para o sucesso. Consequentemente, em pacientes com cultura positiva com 14 dias de tratamento, parece prudente continuar a terapia intravenosa intensiva em vez de mudar para terapia ambulatorial oral como é a prática atual (Robinson, 1999; Nascimento, 2016).

Porém, mesmo com a administração adequada e contínua de antifúngicos que habitualmente guardam sensibilidade contra as espécies de *Cryptococcus* spp. em algumas situações o controle da infecção ocorre apenas tardiamente ou até mesmo não ocorre, caracterizando uma infecção persistente que pode ser definida como a presença de cultura positiva após 4 semanas de terapia antifúngica adequada, podendo o paciente, além das complicações precoces da doença, apresentar resultados desfavoráveis a longo prazo. Além desta refratariedade, a recorrência pode ocorrer em até 13% dos pacientes com profilaxia adequada com fluconazol, apesar da maioria destes casos ser devido a doses ou duração inadequada nas fases de indução ou manutenção ou dificuldade de adesão a terapia na consolidação (Nascimento, 2016; Henao-Martínez, 2018).

Este estudo tem várias limitações, dentre estas por tratar-se de um estudo retrospectivo com uso de dados secundários, consequentemente apresentando, por vezes, falta de informações importantes para melhor análise. Esta ausência de dados foram fruto de mudanças de cenários de cuidados que os pacientes se encontravam e não acesso desta maneira aos registros e outras situações em que dados fundamentais não foram colhidos ou solicitados diante do reconhecimento tardio desta infecção.

O fato de ter sido realizado em apenas uma região brasileira reduz as possibilidades de generalização dos resultados, além da ausência de informações de pacientes da rede privada de saúde do Distrito Federal.

Entretanto, permitiu observar uma importante presença da criptococose em pacientes não soropositivos, destacando a necessidade de conscientização dos profissionais de saúde para tal fato assim como deixou clara a importância de disseminação do conhecimento relacionado ao diagnóstico e manejo desta infecção fúngica na região, já que boa parte dos pacientes apresentavam diagnóstico tardio da criptococose e não foram manejados conforme as recomendações vigentes.

Outro fato importante observado foi o manejo inadequado da hipertensão intracraniana presente na neurocriptococose, constatado diante da ausência da aferição da pressão de abertura em grande parte dos pacientes com meningite criptocócica neste estudo, o que não permite o controle desta grave manifestação, que requer punção lombar de alívio para reduzir a pressão elevada visto a falta de resposta a outras medidas clínicas.

## 6. CONCLUSÃO

A criptococose no Distrito Federal mostrou grande presença entre pacientes soropositivos e em idade economicamente ativa, com maior proporção de casos no sexo masculino, com a não adesão a recomendações de tratamento mais relevante entre pacientes com HIV, grupo no qual também foi observada maior letalidade tanto em duas quanto em dez semanas de tratamento.

O *C. neoformans* foi o agente predominante nas amostras deste estudo, estando o *C. gattii* mais presente em pacientes soronegativos. O acometimento do sistema nervoso central foi observado na grande maioria dos pacientes.

Observou-se um manejo inapropriado da meningite criptocócica na maioria dos pacientes independentemente do status sorológico para HIV, além da demora no diagnóstico da infecção fúngica em alguns casos, destacando a necessidade de ofertar o teste rápido para criptococose nos locais onde os pacientes são admitidos, assim como efetivamente realizar a triagem com este teste conforme recomendações do ministério da saúde.

Desta maneira, é fundamental uma melhor organização do sistema de saúde, com envolvimento da atenção primária no diagnóstico precoce de condições imunossupressoras, assim como o encaminhamento precoce dos pacientes com criptococose para serviços especializados com acesso a melhores condições diagnósticas e de manejo das complicações ligadas ao tratamento e à HIC.

Destaca-se que a grande maioria dos pacientes receberam terapias de indução baseadas nas formulações lipídicas de anfotericina B, diferentemente da medicação de primeira escolha das distintas guias de tratamento

brasileiras e internacionais. Isso pode reforçar a importância de um manejo robusto da neurocriptococose não somente baseado em medicações, mas também no controle de eventos adversos diretamente ligados a esta doença como a hipertensão intracraniana que foi extremamente negligenciada neste estudo, fatos podem estar associados à elevada letalidade observada.

Consequentemente, fica clara a necessidade de divulgação da presença deste fungo como um importante agente responsável por doenças neurológicas, visando redução da morbidade e letalidade associadas à meningite criptocócica em pacientes soropositivos e soronegativos, com destaque aos pacientes com doenças imunológicas ou terapias imunossupressoras que alteram a imunidade celular que está associada à proteção contra a criptococose.

## REFERÊNCIAS

1. Gullo FP, Rossi SA, Sardi J de C, Teodoro VL, Mendes-Giannini MJ, Fusco-Almeida AM. Cryptococcosis: epidemiology, fungal resistance, and new alternatives for treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013 Nov;32(11):1377-91. doi: 10.1007/s10096-013-1915-8. Epub 2013 Jul 4. PMID: 24141976.
2. Wiesner DL, Boulware DR. Cryptococcus-Related Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome (IRIS): Pathogenesis and Its Clinical Implications. *Curr Fungal Infect Rep*. 2011 Dec 1;5(4):252-261. doi: 10.1007/s12281-011-0064-8. PMID: 22389746; PMCID: PMC3289516.
3. Alves Soares E, Lazera MDS, Wanke B, Faria Ferreira M, Carvalhaes de Oliveira RV, Oliveira AG, Coutinho ZF. Mortality by cryptococcosis in Brazil from 2000 to 2012: A descriptive epidemiological study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 Jul 29;13(7): e0007569. doi: 10.1371/journal.pntd.0007569. PMID: 31356603; PMCID: PMC6687200.
4. Boyer-Chammard T, Temfack E, Alanio A, Jarvis JN, Harrison TS, Lortholary O. Recent advances in managing HIV-associated cryptococcal meningitis. *F1000Res*. 2019 May 28;8: F1000 Faculty Rev-743. doi: 10.12688/f1000research.17673.1. PMID: 31275560; PMCID: PMC6544127.
5. Herkert PF, Hagen F, Pinheiro RL, Muro MD, Meis JF, Queiroz-Telles F. Ecoepidemiology of *Cryptococcus gattii* in Developing Countries. *J Fungi (Basel)*. 2017 Nov 3;3(4):62. doi: 10.3390/jof3040062. PMID: 29371578; PMCID: PMC5753164.
6. Durski KN, Kuntz KM, Yasukawa K, Virnig BA, Meya DB, Boulware DR. Cost-effective diagnostic checklists for meningitis in resource-limited settings. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013 Jul 1;63(3):e101-8. doi:

- 10.1097/QAI.0b013e31828e1e56. PMID: 23466647; PMCID: PMC3683123.
7. Rajasingham R, Meya DB, Boulware DR. Integrating cryptococcal antigen screening and pre-emptive treatment into routine HIV care. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2012 Apr 15;59(5):e85-91. doi: 10.1097/QAI.0b013e31824c837e. PMID: 22410867; PMCID: PMC3311156.
  8. Williams DA, Kiiza T, Kwizera R, Kiggundu R, Velamakanni S, Meya DB, Rhein J, Boulware DR. Evaluation of fingerstick cryptococcal antigen lateral flow assay in HIV-infected persons: a diagnostic accuracy study. *Clin Infect Dis.* 2015 Aug 1;61(3):464-7. doi: 10.1093/cid/civ263. Epub 2015 Apr 1. PMID: 25838287; PMCID: PMC4503809.
  9. Meya DB, Manabe YC, Boulware DR, Janoff EN. The immunopathogenesis of cryptococcal immune reconstitution inflammatory syndrome: understanding a conundrum. *Curr Opin Infect Dis.* 2016 Feb;29(1):10-22. doi: 10.1097/QCO.0000000000000224. PMID: 26658650; PMCID: PMC4689618.
  10. Rajasingham R, Govender NP, Jordan A, Loyse A, Shroufi A, Denning DW, Meya DB, Chiller TM, Boulware DR. The global burden of HIV-associated cryptococcal infection in adults in 2020: a modelling analysis. *Lancet Infect Dis.* 2022 Dec;22(12):1748-1755. doi: 10.1016/S1473-3099(22)00499-6. Epub 2022 Aug 29. Erratum in: *Lancet Infect Dis.* 2022 Oct 31: PMID: 36049486; PMCID: PMC9701154.
  11. Vidal JE, de Albuquerque Moraes C, de Siqueira REB, Miranda NFB, Marcusso R, Boulware DR, de Oliveira ACP. HIV-Associated Cryptococcal Meningitis Patients Treated with Amphotericin B Deoxycholate Plus Flucytosine under Routine Care Conditions in a Referral Center in São Paulo, Brazil. *Mycopathologia.* 2020 Nov 30. doi: 10.1007/s11046-020-00512-2. Epub ahead of print. PMID: 33258083.



12. Firacative C, Lizarazo J, Illnait-Zaragozí MT, Castañeda E; Latin American Cryptococcal Study Group. The status of cryptococcosis in Latin America. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2018;113(7): e170554. doi: 10.1590/0074-02760170554. Epub 2018 Apr 5. PMID: 29641639; PMCID: PMC5888000.
13. Musubire AK, Boulware DR, Meya DB, Rhein J. Diagnosis and Management of Cryptococcal Relapse. *J AIDS Clin Res*. 2013 Apr 29; Suppl 3(3): S3-003. doi: 10.4172/2155-6113.s3-003. PMID: 24371542; PMCID: PMC3870901.
14. Prado M, Silva MB, Laurenti R, Travassos LR, Taborda CP. Mortality due to systemic mycoses as a primary cause of death or in association with AIDS in Brazil: a review from 1996 to 2006. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009 May;104(3):513-21. doi: 10.1590/s0074-02762009000300019. PMID: 19547881.
15. Silva DC, Martins MA, Szeszs MW, Bonfietti LX, Matos D, Melhem MS. Susceptibility to antifungal agents and genotypes of Brazilian clinical and environmental *Cryptococcus gattii* strains. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012 Apr;72(4):332-9. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2011.11.016. Epub 2012 Feb 14. PMID: 22341512.
16. Pappalardo MC, Melhem MS. Cryptococcosis: a review of the Brazilian experience for the disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2003 Nov-Dec;45(6):299-305. doi: 10.1590/s0036-46652003000600001. Epub 2004 Jan 26. PMID: 14762626.
17. Chimelli L, Rosemberg S. Neuropatologia da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* [online]. 1993, v. 26, n. 2 [Acessado 26 julho 2022], pp. 113-119. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0037-86821993000200007>>. Epub 10 Abr 2013. ISSN 1678-9849. <https://doi.org/10.1590/S0037-86821993000200007>.
18. Vidal JE, Penalva de Oliveira AC, Dauar RF, Boulware DR. Strategies to reduce mortality and morbidity due to AIDS-related cryptococcal

- meningitis in Latin America. *Braz J Infect Dis*. 2013 May-Jun;17(3):353-62. doi: 10.1016/j.bjid.2012.10.020. Epub 2013 May 10. PMID: 23665012; PMCID: PMC3747670.
19. Araújo Júnior EC, Táparo CV, Uchida CY, Marinho M. *Cryptococcus*: isolamento ambiental e caracterização bioquímica. *Arq Bras Med Vet. Zootec*. 2015 jul/ago;67(4):1003-8.
20. Srikanta D, Santiago-Tirado FH, Doering TL. *Cryptococcus neoformans*: historical curiosity to modern pathogen. *Yeast*. 2014 Feb;31(2):47-60. doi: 10.1002/yea.2997. Epub 2014 Jan 19. PMID: 24375706; PMCID: PMC3938112.
21. Zaragoza O. Basic principles of the virulence of *Cryptococcus*. *Virulence*. 2019 Dec;10(1):490-501. doi: 10.1080/21505594.2019.1614383. PMID: 31119976; PMCID: PMC6550552.
22. Corrêa Pinheiro M, Dos Reis DST, de Brito MTFM, Simões Quaresma JA. Cryptococcosis in the Amazon: A current overview and future perspectives. *Acta Trop*. 2019 Sep; 197:105023. doi: 10.1016/j.actatropica.2019.05.014. Epub 2019 Jun 8. PMID: 31181189.
23. May RC, Stone NR, Wiesner DL, Bicanic T, Nielsen K. *Cryptococcus*: from environmental saprophyte to global pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 2016;14: 106–117. pmid:26685750
24. Bernal-Martinez L, Gomez-Lopez A, Castelli MV, Mesa-Arango AC, Zaragoza O, Rodriguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M. Susceptibility profile of clinical isolates of non-*Cryptococcus neoformans*/non-*Cryptococcus gattii* *Cryptococcus* species and literature review. *Med Mycol*. 2010 Feb;48(1):90-6. doi: 10.3109/13693780902756073. PMID: 19235546.
25. Diaz JH. The Disease Ecology, Epidemiology, Clinical Manifestations, and Management of Emerging *Cryptococcus gattii* Complex Infections. *Wilderness Environ Med*. 2020 Mar;31(1):101-109. doi: 10.1016/j.wem.2019.10.004. Epub 2019 Dec 6. PMID: 31813737.

26. Herkert PF, Hagen F, Pinheiro RL, Muro MD, Meis JF, Queiroz-Telles F. Ecoepidemiology of *Cryptococcus gattii* in Developing Countries. *J Fungi (Basel)*. 2017 Nov 3;3(4):62. doi: 10.3390/jof3040062. PMID: 29371578; PMCID: PMC5753164.
27. Sloan DJ, Parris V. Cryptococcal meningitis: epidemiology and therapeutic options. *Clin Epidemiol*. 2014 May 13; 6:169-82. doi: 10.2147/CLEP.S38850. PMID: 24872723; PMCID: PMC4026566.
28. Corti M, Priarone M, Negroni R, Gilardi L, Castrelo J, Arechayala AI, Messina F, Franze O. Ventriculoperitoneal shunts for treating increased intracranial pressure in cryptococcal meningitis with or without ventriculomegaly. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014 Jul;47(4):524-7. doi: 10.1590/0037-8682-0176-2013. PMID: 25229298.
29. Chen SC, Meyer W, Sorrell TC. *Cryptococcus gattii* infections. *Clin Microbiol Rev*. 2014 Oct;27(4):980-1024. doi: 10.1128/CMR.00126-13. PMID: 25278580; PMCID: PMC4187630.
30. Warkentien T, Crum-Cianflone NF. An update on *Cryptococcus* among HIV-infected patients. *Int J STD AIDS*. 2010 Oct;21(10):679-84. doi: 10.1258/ijsa.2010.010182. PMID: 21139145; PMCID: PMC3134968.
31. Franco-Paredes C, Womack T, Bohlmeyer T, Sellers B, Hays A, Patel K, Lizarazo J, Lockhart SR, Siddiqui W, Marr KA. Management of *Cryptococcus gattii* meningoencephalitis. *Lancet Infect Dis*. 2015 Mar;15(3):348-55. doi: 10.1016/S1473-3099(14)70945-4. Epub 2014 Nov 26. PMID: 25467646; PMCID: PMC4481715.
32. Coelho C, Casadevall A. Cryptococcal therapies and drug targets: the old, the new and the promising. *Cell Microbiol*. 2016 Jun;18(6):792-9. doi: 10.1111/cmi.12590. Epub 2016 Apr 8. PMID: 26990050; PMCID: PMC5536168.
33. Grossman NT, Casadevall A. Physiological Differences in *Cryptococcus neoformans* Strains *In Vitro* versus *In Vivo* and Their Effects on Antifungal Susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*.

- 2017 Feb 23;61(3): e02108-16. doi: 10.1128/AAC.02108-16. PMID: 28031206; PMCID: PMC5328578.
34. Zaragoza O. Basic principles of the virulence of *Cryptococcus*. Virulence. 2019 Dec;10(1):490-501. doi: 10.1080/21505594.2019.1614383. PMID: 31119976; PMCID: PMC6550552.
35. Nascimento E, Vitali LH, Tonani L, Kress MR, Takayanagui OM, Martinez R. Refractory and/or Relapsing Cryptococcosis Associated with Acquired Immune Deficiency Syndrome: Clinical Features, Genotype, and Virulence Factors of *Cryptococcus* spp. Isolates. Am J Trop Med Hyg. 2016 May 4;94(5):975-81. doi: 10.4269/ajtmh.15-0595. Epub 2016 Feb 29. PMID: 26928832; PMCID: PMC4856629.
36. Filiú WFO, Wanke B, Aguenta SM, Vilela VO, Macedo RCL, Lazéra M. Cativeiro de aves como fonte de *Cryptococcus neoformans* na cidade de Campo Grande, no Mato Grosso do Sul, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 35:591-595, 2002.
37. Srikanta D, Santiago-Tirado FH, Doering TL. *Cryptococcus neoformans*: historical curiosity to modern pathogen. Yeast. 2014 Feb;31(2):47-60. doi: 10.1002/yea.2997. Epub 2014 Jan 19. PMID: 24375706; PMCID: PMC3938112.
38. Diaz JH. The Disease Ecology, Epidemiology, Clinical Manifestations, and Management of Emerging *Cryptococcus gattii* Complex Infections. Wilderness Environ Med. 2020 Mar;31(1):101-109. doi: 10.1016/j.wem.2019.10.004. Epub 2019 Dec 6. PMID: 31813737.
39. Kim JY. Human fungal pathogens: Why should we learn? J Microbiol. 2016 Mar;54(3):145-8. doi: 10.1007/s12275-016-0647-8. PMID: 26920875.
40. Prattes J, Heldt S, Eigl S, Hoenigl M. Point of Care Testing for the Diagnosis of Fungal Infections: Are We There Yet? Curr Fungal Infect Rep. 2016; 10:43-50. doi: 10.1007/s12281-016-0254-5. Epub 2016 Apr 7. PMID: 27358661; PMCID: PMC4896970.

41. Coelho C, Casadevall A. Cryptococcal therapies and drug targets: the old, the new and the promising. *Cell Microbiol.* 2016 Jun;18(6):792-9. doi: 10.1111/cmi.12590. Epub 2016 Apr 8. PMID: 26990050; PMCID: PMC5536168.
42. Nguyen MH, Husain S, Clancy CJ, Peacock JE, Hung CC, Kontoyiannis DP, Morris AJ, Heath CH, Wagener M, Yu VL. Outcomes of central nervous system cryptococcosis vary with host immune function: results from a multi-center, prospective study. *J Infect.* 2010 Nov;61(5):419-26. doi: 10.1016/j.jinf.2010.08.004. Epub 2010 Aug 21. PMID: 20732350.
43. Meya DB, Manabe YC, Boulware DR, Janoff EN. The immunopathogenesis of cryptococcal immune reconstitution inflammatory syndrome: understanding a conundrum. *Curr Opin Infect Dis.* 2016 Feb;29(1):10-22. doi: 10.1097/QCO.0000000000000224. PMID: 26658650; PMCID: PMC4689618.
44. Qu J, Zhou T, Zhong C, Deng R, Lü X. Comparison of clinical features and prognostic factors in HIV-negative adults with cryptococcal meningitis and tuberculous meningitis: a retrospective study. *BMC Infect Dis.* 2017 Jan 10;17(1):51. doi: 10.1186/s12879-016-2126-6. PMID: 28068915; PMCID: PMC5223460.
45. Motoa G, Pate A, Chastain D, Mann S, Canfield GS, Franco-Paredes C, Henao-Martínez AF. Increased cryptococcal meningitis mortality among HIV negative, non-transplant patients: a single US center cohort study. *Ther Adv Infect Dis.* 2020 Jul 8; 7:2049936120940881. doi: 10.1177/2049936120940881. PMID: 32685148; PMCID: PMC7346692.
46. Perfect JR, Bicanic T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now. *Fungal Genet Biol.* 2015 May; 78:49-54. doi: 10.1016/j.fgb.2014.10.003. Epub 2014 Oct 13. PMID: 25312862; PMCID: PMC4395512.
47. Zheng H, Li M, Wang D, Ling Yang J, Chen Q, Zhang X, Man Y, Lao J, Chen N, Pan S. Gender-specific contributing risk factors and outcome

- of female cryptococcal meningoencephalitis patients. *BMC Infect Dis.* 2016 Jan 22; 16:22. doi: 10.1186/s12879-016-1363-z. PMID: 26801903; PMCID: PMC4724144.
48. Zafar H, Altamirano S, Ballou ER, Nielsen K. A titanic drug resistance threat in *Cryptococcus neoformans*. *Curr Opin Microbiol.* 2019 Dec; 52:158-164. doi: 10.1016/j.mib.2019.11.001. Epub 2019 Nov 22. PMID: 31765991; PMCID: PMC6941473.
49. Lindsley MD, Mekha N, Baggett HC, Surinthong Y, Autthateinchai R, Sawatwong P, Harris JR, Park BJ, Chiller T, Balajee SA, Poonwan N. Evaluation of a newly developed lateral flow immunoassay for the diagnosis of cryptococcosis. *Clin Infect Dis.* 2011 Aug;53(4):321-5. doi: 10.1093/cid/cir379. PMID: 21810743; PMCID: PMC3148258.
50. Scriven JE, Graham LM, Schutz C, Scriba TJ, Wilkinson KA, Wilkinson RJ, Boulware DR, Urban BC, Meintjes G, Lalloo DG. The CSF Immune Response in HIV-1-Associated Cryptococcal Meningitis: Macrophage Activation, Correlates of Disease Severity, and Effect of Antiretroviral Therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2017 Jul 1;75(3):299-307. doi: 10.1097/QAI.0000000000001382. PMID: 28346317; PMCID: PMC5469563.
51. Setianingrum F, Rautemaa-Richardson R, Denning DW. Pulmonary cryptococcosis: A review of pathobiology and clinical aspects. *Med Mycol.* 2019 Feb 1;57(2):133-150. doi: 10.1093/mmy/myy086. PMID: 30329097.
52. Kwon-Chung KJ, Fraser JA, Doering TL, Wang Z, Janbon G, Idnurm A, Bahn YS. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, the etiologic agents of cryptococcosis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2014 Jul 1;4(7): a019760. doi: 10.1101/cshperspect. a019760. PMID: 24985132; PMCID: PMC4066639.
53. Fisher JF, Valencia-Rey PA, Davis WB. Pulmonary Cryptococcosis in the Immunocompetent Patient-Many Questions, Some Answers. *Open Forum Infect Dis.* 2016 Sep 3;3(3): ofw167. doi: 10.1093/ofid/ofw167.

- Erratum in: *Open Forum Infect Dis.* 2017 Jan 31;4(1): ofw218. PMID: 27704021; PMCID: PMC5047412.
54. Hevey MA, George IA, Raval K, Powderly WG, Spec A. Presentation and Mortality of Cryptococcal Infection Varies by Predisposing Illness: A Retrospective Cohort Study. *Am J Med.* 2019 Aug;132(8):977-983.e1. doi: 10.1016/j.amjmed.2019.04.026. Epub 2019 May 8. PMID: 31077652; PMCID: PMC6744315.
55. Liu Y, Peng X, Weng W, Zhu J, Cao H, Xie S. Efficacy of ventriculoperitoneal shunting in patients with cryptococcal meningitis with intracranial hypertension. *Int J Infect Dis.* 2019 Nov; 88:102-109. doi: 10.1016/j.ijid.2019.08.034. Epub 2019 Sep 6. PMID: 31499210.
56. Graybill JR, Sobel J, Saag M, van Der Horst C, Powderly W, Cloud G, Riser L, Hamill R, Dismukes W. Diagnosis and management of increased intracranial pressure in patients with AIDS and cryptococcal meningitis. The NIAID Mycoses Study Group and AIDS Cooperative Treatment Groups. *Clin Infect Dis.* 2000 Jan;30(1):47-54. doi: 10.1086/313603. PMID: 10619732.
57. Thakur KT, Wilson MR. Chronic Meningitis. *Continuum (Minneap Minn).* 2018 Oct;24(5, Neuroinfectious Disease):1298-1326. doi: 10.1212/CON.0000000000000664. PMID: 30273241; PMCID: PMC6812559.
58. Wu X, Shen Y. Management of human immunodeficiency virus-associated cryptococcal meningitis: Current status and future directions. *Mycoses.* 2019 Oct;62(10):874-882. doi: 10.1111/myc.12977. Epub 2019 Aug 18. PMID: 31365770.
59. Yuchong C, Jianghan C, Hai W, Julin G. Lumbar puncture drainage with intrathecal injection of amphotericin B for control of cryptococcal meningitis. *Mycoses.* 2011 Jul;54(4): e248-51. doi: 10.1111/j.1439-0507.2009.01847. x. Epub 2010 Jan 13. PMID: 20070534.
60. de Vedia L, Arechavala A, Calderón MI, Maiolo E, Rodríguez A, Lista N, Di Virgilio E, Cisneros JC, Prieto R. Relevance of intracranial

- hypertension control in the management of *Cryptococcus neoformans* meningitis related to AIDS. *Infection*. 2013 Dec;41(6):1073-7. doi: 10.1007/s15010-013-0538-4. PMID: 24122543.
61. Chen S, Sorrell T, Nimmo G, Speed B, Currie B, Ellis D, Marriott D, Pfeiffer T, Parr D, Byth K. Epidemiology and host- and variety-dependent characteristics of infection due to *Cryptococcus neoformans* in Australia and New Zealand. Australasian Cryptococcal Study Group. *Clin Infect Dis*. 2000 Aug;31(2):499-508. doi: 10.1086/313992. Epub 2000 Sep 7. PMID: 10987712.
62. Maziarz EK, Perfect JR. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North Am*. 2016 Mar;30(1):179-206. doi: 10.1016/j.idc.2015.10.006. PMID: 26897067; PMCID: PMC5808417.
63. Carrasco-Zuber JE, Navarrete-Dechent C, Bonifaz A, Fich F, Vial-Letelier V, Berroeta-Mauriziano D. Cutaneous involvement in the deep mycoses: A review. Part II -Systemic mycoses. *Actas Dermosifiliogr*. 2016 Dec;107(10):816-822. English, Spanish. doi: 10.1016/j.ad.2016.06.001. Epub 2016 Aug 4. PMID: 27499249.
64. Christianson JC, Engber W, Andes D. Primary cutaneous cryptococcosis in immunocompetent and immunocompromised hosts. *Med Mycol*. 2003 Jun;41(3):177-88. doi: 10.1080/1369378031000137224. PMID: 12964709.
65. Noguchi H, Matsumoto T, Kimura U, Hiruma M, Kusahara M, Ihn H. Cutaneous Cryptococcosis. *Med Mycol J*. 2019;60(4):101-107. doi: 10.3314/mmj.19.008. PMID: 31787730.
66. Spec A, Olsen MA, Raval K, Powderly WG. Impact of Infectious Diseases Consultation on Mortality of Cryptococcal infection in Patients without HIV. *Clin Infect Dis*. 2017 Mar 1;64(5):558-564. doi: 10.1093/cid/ciw786. Epub 2016 Dec 7. PMID: 27927865; PMCID: PMC6225890.
67. George IA, Spec A, Powderly WG, Santos CAQ. Comparative Epidemiology and Outcomes of Human Immunodeficiency virus (HIV),



Non-HIV Non-transplant, and Solid Organ Transplant Associated Cryptococcosis: A Population-Based Study. *Clin Infect Dis*. 2018 Feb 1;66(4):608-611. doi: 10.1093/cid/cix867. PMID: 29028978; PMCID: PMC5849089.

68. Kabanda T, Siedner MJ, Klausner JD, Muzoora C, Boulware DR. Point-of-care diagnosis and prognostication of cryptococcal meningitis with the cryptococcal antigen lateral flow assay on cerebrospinal fluid. *Clin Infect Dis*. 2014 Jan;58(1):113-6. doi: 10.1093/cid/cit641. Epub 2013 Sep 24. PMID: 24065327; PMCID: PMC3864499.
69. Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, Steinbach WJ, Baddley JW, Verweij PE, Clancy CJ, Wingard JR, Lockhart SR, Groll AH, Sorrell TC, Bassetti M, Akan H, Alexander BD, Andes D, Azoulay E, Bialek R, Bradsher RW, Bretagne S, Calandra T, Caliendo AM, Castagnola E, Cruciani M, Cuenca-Estrella M, Decker CF, Desai SR, Fisher B, Harrison T, Heussel CP, Jensen HE, Kibbler CC, Kontoyiannis DP, Kullberg BJ, Lagrou K, Lamoth F, Lehrnbecher T, Loeffler J, Lortholary O, Maertens J, Marchetti O, Marr KA, Masur H, Meis JF, Morrissey CO, Nucci M, Ostrosky-Zeichner L, Pagano L, Patterson TF, Perfect JR, Racil Z, Roilides E, Ruhnke M, Prokop CS, Shoham S, Slavin MA, Stevens DA, Thompson GR, Vazquez JA, Viscoli C, Walsh TJ, Warris A, Wheat LJ, White PL, Zaoutis TE, Pappas PG. Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Clin Infect Dis*. 2020 Sep 12;71(6):1367-1376. doi: 10.1093/cid/ciz1008. PMID: 31802125; PMCID: PMC7486838.
70. Trachtenberg JD, Kambugu AD, McKellar M, Semitala F, Mayanja-Kizza H, Samore MH, Ronald A, Sande MA. The medical management of central nervous system infections in Uganda and the potential impact of an algorithm-based approach to improve outcomes. *Int J Infect Dis*.

2007 Nov;11(6):524-30. doi: 10.1016/j.ijid.2007.01.014. Epub 2007 May 18. PMID: 17512773.

71. Vidal JE, Boulware DR. Lateral flow assay for cryptococcal antigen: an important advance to improve the continuum of hiv care and reduce cryptococcal meningitis-related mortality. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2015 Sep;57 Suppl 19(Suppl 19):38-45. doi: 10.1590/S0036-46652015000700008. PMID: 26465368; PMCID: PMC4711197.
72. Skipper C, Abassi M, Boulware DR. Diagnosis and Management of Central Nervous System Cryptococcal Infections in HIV-Infected Adults. *J Fungi (Basel)*. 2019 Jul 19;5(3):65. doi: 10.3390/jof5030065. PMID: 31330959; PMCID: PMC6787675.
73. Song G, Liang G, Liu W. Fungal Co-infections Associated with Global COVID-19 Pandemic: A Clinical and Diagnostic Perspective from China. *Mycopathologia*. 2020 Aug;185(4):599-606. doi: 10.1007/s11046-020-00462-9. Epub 2020 Jul 31. PMID: 32737747; PMCID: PMC7394275.
74. Rajasingham R, Wake RM, Beyene T, Katende A, Letang E, Boulware DR. Cryptococcal Meningitis Diagnostics and Screening in the Era of Point-of-Care Laboratory Testing. *J Clin Microbiol*. 2019 Jan 2;57(1): e01238-18. doi: 10.1128/JCM.01238-18. PMID: 30257903; PMCID: PMC6322457.
75. Abassi M, Boulware DR, Rhein J. Cryptococcal Meningitis: Diagnosis and Management Update. *Curr Trop Med Rep*. 2015 Jun 1;2(2):90-99. doi: 10.1007/s40475-015-0046-y. PMID: 26279970; PMCID: PMC4535722.
76. Jarvis JN, Percival A, Bauman S, Pelfrey J, Meintjes G, Williams GN, Longley N, Harrison TS, Kozel TR. Evaluation of a novel point-of-care cryptococcal antigen test on serum, plasma, and urine from patients with HIV-associated cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis*. 2011 Nov;53(10):1019-23. doi: 10.1093/cid/cir613. Epub 2011 Sep 21. PMID: 21940419; PMCID: PMC3193830.

77. Boulware DR, Rolfes MA, Rajasingham R, von Hohenberg M, Qin Z, Taseera K, Schutz C, Kwizera R, Butler EK, Meintjes G, Muzoora C, Bischof JC, Meya DB. Multisite validation of cryptococcal antigen lateral flow assay and quantification by laser thermal contrast. *Emerg Infect Dis.* 2014 Jan;20(1):45-53. doi: 10.3201/eid2001.130906. PMID: 24378231; PMCID: PMC3884728.
78. Hu Z, Yang Y, Cheng J, Cheng C, Chi Y, Wei H. The use of mannitol in HIV-infected patients with symptomatic cryptococcal meningitis. *Drug Discov Ther.* 2017 Jan 15;10(6):329-333. doi: 10.5582/ddt.2016.01054. Epub 2016 Oct 11. PMID: 27725572.
79. Costa MM, Madeira Ld, Feitosa RN, Ishak Mde O, Ishak R, Silva SH, Vallinoto AC. Detection of *Cryptococcus neoformans* capsular antigen in HIV-infected patients in the state of Para in the north of Brazil. *Curr HIV Res.* 2013 Dec;11(8):647-51. doi: 10.2174/1570162x12666140311125420. PMID: 24611754.
80. Ferreira MF, Brito-Santos F, Trilles L, Almeida MA, Wanke B, Veloso VG, Nunes EP, Lazera MDS. Cryptococcal antigenemia prevalence and clinical data in HIV-infected patients from the reference centre at INI-FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Southeast of Brazil. *Mycoses.* 2020 Feb;63(2):145-150. doi: 10.1111/myc.13032. Epub 2019 Nov 24. PMID: 31715053.
81. Rolfes MA, Hullsiek KH, Rhein J, Nabeta HW, Taseera K, Schutz C, Musubire A, Rajasingham R, Williams DA, Thienemann F, Muzoora C, Meintjes G, Meya DB, Boulware DR. The effect of therapeutic lumbar punctures on acute mortality from cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis.* 2014 Dec 1;59(11):1607-14. doi: 10.1093/cid/ciu596. Epub 2014 Jul 23. Erratum in: *Clin Infect Dis.* 2015 May 1;60(9):1449. PMID: 25057102; PMCID: PMC4441057.
82. Sawadogo S, Makumbi B, Purfield A, Ndjavera C, Mutandi G, Maher A, Kaindjee-Tjituka F, Kaplan JE, Park BJ, Lowrance DW. Estimated Prevalence of *Cryptococcus* Antigenemia (CrAg) among HIV-Infected

Adults with Advanced Immunosuppression in Namibia Justifies Routine Screening and Preemptive Treatment. *PLoS One*. 2016 Oct 19;11(10): e0161830. doi: 10.1371/journal.pone.0161830. PMID: 27760140; PMCID: PMC5070823.

83. Govender NP, Meintjes G, Bicanic T, Dawood H, Harrison TS, Jarvis JN, *et al*. Guideline for the prevention, diagnosis and management of cryptococcal meningitis among HIV-infected persons: 2013 update. *S Afr HIV Med*. 2013; 14:76-86.
84. Rajasingham R, Meya DB, Greene GS, Jordan A, Nakawuka M, Chiller TM, Boulware DR, Larson BA. Evaluation of a national cryptococcal antigen screening program for HIV-infected patients in Uganda: A cost-effectiveness modeling analysis. *PLoS One*. 2019 Jan 10;14(1): e0210105. doi: 10.1371/journal.pone.0210105. PMID: 30629619; PMCID: PMC6328136.
85. Brouwer AE, Teparrukkul P, Pinpraphaporn S, Larsen RA, Chierakul W, Peacock S, Day N, White NJ, Harrison TS. Baseline correlation and comparative kinetics of cerebrospinal fluid colony-forming unit counts and antigen titers in cryptococcal meningitis. *J Infect Dis*. 2005 Aug 15;192(4):681-4. doi: 10.1086/432073. Epub 2005 Jul 7. PMID: 16028138.
86. Lofgren S, Abassi M, Rhein J, Boulware DR. Recent advances in AIDS-related cryptococcal meningitis treatment with an emphasis on resource limited settings. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2017 Apr;15(4):331-340. doi: 10.1080/14787210.2017.1285697. Epub 2017 Feb 9. PMID: 28111998; PMCID: PMC5602588.
87. Vaidhya SA, Gupta BB, Jha RK, Kumar R. Combination Versus Monotherapy for the Treatment of HIV Associated Cryptococcal Meningitis. *J Clin Diagn Res*. 2015 Feb;9(2): OC14-6. doi: 10.7860/JCDR/2015/12360.5601. Epub 2015 Feb 1. PMID: 25859480; PMCID: PMC4378762.

88. Rapid Advice: Diagnosis, Prevention and Management of Cryptococcal Disease in HIV-Infected Adults, Adolescents and Children. Geneva: World Health Organization; 2011 Dec.
89. Guidelines on the diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children: supplement to the 2016 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Geneva: World Health Organization; 2018.
90. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018.
91. Jarvis JN, Lawrence DS, Meya DB, Kagimu E, Kasibante J, Mpoza E, Rutakingirwa MK, Ssebambulidde K, Tugume L, Rhein J, Boulware DR, Mwandumba HC, Moyo M, Mzinganjira H, Kanyama C, Hosseinipour MC, Chawinga C, Meintjes G, Schutz C, Comins K, Singh A, Muzoora C, Jjunju S, Nuwagira E, Mosepele M, Leeme T, Siamisang K, Ndhlovu CE, Hlupeni A, Mutata C, van Widenfelt E, Chen T, Wang D, Hope W, Boyer-Chammard T, Loyse A, Molloy SF, Youssouf N, Lortholary O, Lalloo DG, Jaffar S, Harrison TS; Ambition Study Group. Single-Dose Liposomal Amphotericin B Treatment for Cryptococcal Meningitis. *N Engl J Med.* 2022 Mar 24;386(12):1109-1120. doi: 10.1056/NEJMoa2111904. PMID: 35320642; PMCID: PMC7612678.
92. Guidelines for diagnosing, preventing and managing cryptococcal disease among adults, adolescents and children living with HIV. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

93. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, Harrison TS, Larsen RA, Lortholary O, Nguyen MH, Pappas PG, Powderly WG, Singh N, Sobel JD, Sorrell TC. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis*. 2010 Feb 1;50(3):291-322. doi: 10.1086/649858.
94. Henao-Martínez AF, Chastain DB, Franco-Paredes C. Treatment of cryptococcosis in non-HIV immunocompromised patients. *Curr Opin Infect Dis*. 2018 Aug;31(4):278-285. doi: 10.1097/QCO.0000000000000458. PMID: 29738314.
95. Baddley JW, Forrest GN; AST Infectious Diseases Community of Practice. Cryptococcosis in solid organ transplantation-Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant*. 2019 Sep;33(9):e13543. doi: 10.1111/ctr.13543. Epub 2019 Apr 14. PMID: 30900315.
96. Mourad A, Perfect JR. The war on cryptococcosis: A Review of the antifungal arsenal. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2018;113(7):e170391. doi: 10.1590/0074-02760170391. Epub 2018 Feb 19. PMID: 29513785; PMCID: PMC5851043.
97. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, Harrison TS, Larsen RA, Lortholary O, Nguyen MH, Pappas PG, Powderly WG, Singh N, Sobel JD, Sorrell TC. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of america. *Clin Infect Dis*. 2010 Feb 1;50(3):291-322. doi: 10.1086/649858. PMID: 20047480; PMCID: PMC5826644.
98. Meya DB, Manabe YC, Castelnuovo B, Cook BA, Elbireer AM, Kambugu A, Kanya MR, Bohjanen PR, Boulware DR. Cost-effectiveness of serum cryptococcal antigen screening to prevent deaths among HIV-infected persons with a CD4+ cell count < or = 100 cells/microL who start HIV therapy in resource-limited settings. *Clin*

- Infect Dis. 2010 Aug 15;51(4):448-55. doi: 10.1086/655143. PMID: 20597693; PMCID: PMC2946373.
99. Yao ZW, Lu X, Shen C, Lin DF. Comparison of flucytosine and fluconazole combined with amphotericin B for the treatment of HIV-associated cryptococcal meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014 Aug;33(8):1339-44. doi: 10.1007/s10096-014-2074-2. Epub 2014 Feb 20. PMID: 24550039.
100. Nematollahi S, Dioverti-Prono V. Cryptococcal infection in haematologic malignancies and haematopoietic stem cell transplantation. *Mycoses*. 2020 Oct;63(10):1033-1046. doi: 10.1111/myc.13153. Epub 2020 Aug 23. PMID: 32740974.
101. Molloy SF, Kanyama C, Heyderman RS, Loyse A, Kouanfack C, Chanda D, Mfinanga S, Temfack E, Lakhi S, Lesikari S, Chan AK, Stone N, Kalata N, Karunaharan N, Gaskell K, Peirse M, Ellis J, Chawinga C, Lontsi S, Ndong JG, Bright P, Lupiya D, Chen T, Bradley J, Adams J, van der Horst C, van Oosterhout JJ, Sini V, Mapoure YN, Mwaba P, Bicanic T, Laloo DG, Wang D, Hosseinipour MC, Lortholary O, Jaffar S, Harrison TS; ACTA Trial Study Team. Antifungal Combinations for Treatment of Cryptococcal Meningitis in Africa. *N Engl J Med*. 2018 Mar 15;378(11):1004-1017. doi: 10.1056/NEJMoa1710922. PMID: 29539274.
102. Falci DR, Lunardi LW, Ramos CG, Bay MB, Aquino VR, Goldani LZ. Continuous infusion of amphotericin B deoxycholate in the treatment of cryptococcal meningoencephalitis: analysis of safety and fungicidal activity. *Clin Infect Dis*. 2010 Mar 1;50(5): e26-9. doi: 10.1086/650489. PMID: 20121575.
103. O'Connor L, Van Anh D, Chau TTH, Chau NVV, Huong LNP, Wolbers M, Day JN. Antifungal susceptibility does not correlate with fungal clearance or survival in AIDS-associated cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis*. 2020 Oct 14: ciaa1544. doi: 10.1093/cid/ciaa1544. Epub ahead of print. PMID: 33051650.

104. Ashley ED. Antifungal Drugs: Special Problems Treating Central Nervous System Infections. *J Fungi (Basel)*. 2019 Oct 11;5(4):97. doi: 10.3390/jof5040097. PMID: 31614505; PMCID: PMC6958367.
105. Bicanic T, Ogden D, Whitney L, Loyse A, Jarvis J. British HIV Association opportunistic infection guidelines: in defense of amphotericin B deoxycholate. *HIV Med*. 2012 Nov;13(10):636-7. doi: 10.1111/j.1468-1293.2012.01022.x. PMID: 23051823.
106. Alvarez-Uria G, Midde M, Pakam R, Yalla PS, Naik PK, Reddy R. Short-Course Induction Treatment with Intrathecal Amphotericin B Lipid Emulsion for HIV Infected Patients with Cryptococcal Meningitis. *J Trop Med*. 2015; 2015:864271. doi: 10.1155/2015/864271. Epub 2015 Sep 10. PMID: 26448766; PMCID: PMC4581562.
107. Alvarez-Uria G, Midde M, Battula J, Pujari HNB. Safety and tolerability of intrathecal liposomal amphotericin *B* (*AmBisome*) for cryptococcal meningitis: a retrospective study in HIV-infected patients. *Ther Adv Infect Dis*. 2018 Jun 12;5(5):77-81. doi: 10.1177/2049936118782846. PMID: 30224950; PMCID: PMC6136115.
108. Loyse A, Dromer F, Day J, Lortholary O, Harrison TS. Flucytosine and cryptococcosis: time to urgently address the worldwide accessibility of a 50-year-old antifungal. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Nov;68(11):2435-44. doi: 10.1093/jac/dkt221. Epub 2013 Jun 20. PMID: 23788479; PMCID: PMC3797641.
109. Bellmann R, Smuszkiwicz P. Pharmacokinetics of antifungal drugs: practical implications for optimized treatment of patients. *Infection*. 2017 Dec;45(6):737-779. doi: 10.1007/s15010-017-1042-z. Epub 2017 Jul 12. PMID: 28702763; PMCID: PMC5696449.
110. Longley N, Muzoora C, Taseera K, Mwesigye J, Rwebembera J, Chakera A, Wall E, Andia I, Jaffar S, Harrison TS. Dose response effect of high-dose fluconazole for HIV-associated cryptococcal meningitis in



- southwestern Uganda. *Clin Infect Dis*. 2008 Dec 15;47(12):1556-61. doi: 10.1086/593194. PMID: 18990067.
111. Wijewardana I, Jarvis JN, Meintjes G, Harrison TS, Bicanic T. Large volume lumbar punctures in cryptococcal meningitis clear cryptococcal antigen as well as lowering pressure. *J Infect*. 2011 Dec;63(6):484-6. doi: 10.1016/j.jinf.2011.09.002. Epub 2011 Sep 14. PMID: 21930156.
112. Antinori S, Radice A, Galimberti L, Magni C, Fasan M, Parravicini C. The role of cryptococcal antigen assay in diagnosis and monitoring of cryptococcal meningitis. *J Clin Microbiol*. 2005 Nov;43(11):5828-9. doi: 10.1128/JCM.43.11.5828-5829.2005. PMID: 16272534; PMCID: PMC1287839.
113. Newton PN, Thai le H, Tip NQ, Short JM, Chierakul W, Rajanuwong A, Pitisuttithum P, Chasombat S, Phonrat B, Maek-A-Nantawat W, Teanadi R, Lalloo DG, White NJ. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of acetazolamide for the treatment of elevated intracranial pressure in cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis*. 2002 Sep 15;35(6):769-72. doi: 10.1086/342299. Epub 2002 Aug 26. PMID: 12203177.
114. Boulware DR, Meya DB, Muzoora C, Rolfes MA, Huppler Hullsiek K, Musubire A, Taseera K, Nabeta HW, Schutz C, Williams DA, Rajasingham R, Rhein J, Thienemann F, Lo MW, Nielsen K, Bergemann TL, Kambugu A, Manabe YC, Janoff EN, Bohjanen PR, Meintjes G; COAT Trial Team. Timing of antiretroviral therapy after diagnosis of cryptococcal meningitis. *N Engl J Med*. 2014 Jun 26;370(26):2487-98. doi: 10.1056/NEJMoa1312884. PMID: 24963568; PMCID: PMC4127879.
115. Lockhart SR, Iqbal N, Bolden CB, DeBess EE, Marsden-Haug N, Worhle R, Thakur R, Harris JR; Cryptococcus gattii PNW Public Health Working Group. Epidemiologic cutoff values for triazole drugs in *Cryptococcus gattii*: correlation of molecular type and in vitro

- susceptibility. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012 Jun;73(2):144-8. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.02.018. Epub 2012 Apr 10. PMID: 22494557.
116. Scheffer, M. et al, *Demografia Médica no Brasil 2015*. Departamento de Medicina Preventiva, Faculdade de Medicina da USP. Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo. Conselho Federal de Medicina. São Paulo: 2015, 284 páginas. ISBN: 978-85-89656-22-1.
117. Robinson PA, Bauer M, Leal MA, Evans SG, Holtom PD, Diamond DA, Leedom JM, Larsen RA. Early mycological treatment failure in AIDS-associated cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis*. 1999 Jan;28(1):82-92. doi: 10.1086/515074. PMID: 10028076.
118. Yoon HA, Felsen U, Wang T, Pirofski LA. *Cryptococcus neoformans* infection in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-infected and HIV-uninfected patients at an inner-city tertiary care hospital in the Bronx. *Med Mycol*. 2020 Jun 1;58(4):434-443. doi: 10.1093/mmy/myz082. PMID: 31342058; PMCID: PMC7261607.
119. Moretti ML, Resende MR, Lazéra MS, Colombo AL, Shikanai-Yasuda MA. Consenso em criptococose--2008 [Guidelines in cryptococcosis--2008]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008 Sep-Oct;41(5):524-44. Portuguese. doi: 10.1590/s0037-86822008000500022. Erratum in: *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008 Nov-Dec;41(6):695. Moretti, Maria Luiza [added]; Resende, Mariângela Ribeiro [added]; Lazéra, Márcia Santos [added]; Colombo, Arnaldo Lopes [added]; Shikanai-Yasuda, Maria Aparecida [added]. PMID: 19009203.
120. Kimaro GD, Guinness L, Shiri T, Kivuyo S, Chanda D, Bottomley C, Chen T, Kahwa A, Hawkins N, Mwaba P, Mfinanga SG, Harrison TS, Jaffar S, Niessen LW. Cryptococcal Meningitis Screening and Community-based Early Adherence Support in People with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection Starting Antiretroviral

- Therapy in Tanzania and Zambia: A Cost-effectiveness Analysis. *Clin Infect Dis.* 2020 Apr 10;70(8):1652-1657. doi: 10.1093/cid/ciz453. PMID: 31149704; PMCID: PMC7146002.
121. Hope W, Stone NRH, Johnson A, McEntee L, Farrington N, Santoro-Castelazo A, Liu X, Lucaci A, Hughes M, Oliver JD, Giamberardino C, Mfinanga S, Harrison TS, Perfect JR, Bicanic T. Fluconazole Monotherapy Is a Suboptimal Option for Initial Treatment of Cryptococcal Meningitis Because of Emergence of Resistance. *mBio.* 2019 Dec 3;10(6): e02575-19. doi: 10.1128/mBio.02575-19. PMID: 31796539; PMCID: PMC6890991.
122. Anaissie EJ, Kontoyiannis DP, Huls C, Vartivarian SE, Karl C, Prince RA, Bosso J, Bodey GP. Safety, plasma concentrations, and efficacy of high-dose fluconazole in invasive mold infections. *J Infect Dis.* 1995 Aug;172(2):599-602. doi: 10.1093/infdis/172.2.599. PMID: 7622915.
123. Jarvis JN, Bicanic T, Loyse A, Namarika D, Jackson A, Nussbaum JC, Longley N, Muzoora C, Phulusa J, Taseera K, Kanyembe C, Wilson D, Hosseinipour MC, Brouwer AE, Limmathurotsakul D, White N, van der Horst C, Wood R, Meintjes G, Bradley J, Jaffar S, Harrison T. Determinants of mortality in a combined cohort of 501 patients with HIV-associated Cryptococcal meningitis: implications for improving outcomes. *Clin Infect Dis.* 2014 Mar;58(5):736-45. doi: 10.1093/cid/cit794. Epub 2013 Dec 6. PMID: 24319084; PMCID: PMC3922213.
124. BRASIL. Ministério da Saúde. NOTA INFORMATIVA No 9/2022-CGDR/. DCCI/SVS/MS. Orientações e recomendações para o uso da Flucitosina 500mg comprimidos para o tratamento de meningite criptocócica, outras formas de neurocriptococose e sua dispensação no Sistema Único de Saúde. Brasília, DF, 9 dez. 2022.

125. Zhao HZ, Wang RY, Wang X, Jiang YK, Zhou LH, Cheng JH, Huang LP, Harrison TS, Zhu LP. High dose fluconazole in salvage therapy for HIV-uninfected cryptococcal meningitis. *BMC Infect Dis.* 2018 Dec 12;18(1):643. doi: 10.1186/s12879-018-3460-7. PMID: 30541454; PMCID: PMC6291952.

## APÊNDICE A

### *Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE*

O (a) Senhor(a) está sendo convidada a participar do projeto:

**ESTUDO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO E MOLECULAR DA  
CRIPTOCOCOSE NO BRASIL: CRIAÇÃO DE UMA REDE INTEGRADA DE  
PESQUISA NO DISTRITO FEDERAL**

O nosso objetivo é conhecer melhor as características epidemiológicas e clínicas da criptococose no Distrito Federal.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome não aparecerá sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a)

A sua participação será através de um questionário que você deverá responder no setor de internação ou ambulatório na data combinada com um tempo estimado para seu preenchimento de: 1 hora. Não existe obrigatoriamente, um tempo pré-determinado, para responder o questionário. Será respeitado o tempo de cada um para respondê-lo. Informamos que a Senhor(a) pode se recusar a responder qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para a senhor(a).

Os resultados da pesquisa serão divulgados de forma individual a qualquer momento quando solicitado e nas Instituições participantes (Fiocruz Brasília, hospital públicos e privados do DF e Lacen/DF) podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sobre a guarda do pesquisador.

Se o Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para o Dr. André Nicola na Universidade de Brasília pelo telefone 61-8581-0129 ou para o Sr. Joaquim Lucas na Fiocruz Brasília pelo telefone 61-8642-2692.

Este projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da SES/DF. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidas através do telefone: (61) 3325-4955.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

---

Nome / assinatura:

---

Pesquisador Responsável  
Nome e assinatura:

Brasília, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

## APÊNDICE B



RCB (revisão 2015/2016)

Formulário de Criptococose - nova versão

Atualização solicitada na reunião da rede em outubro/2015.

**Identificação do responsável pelo preenchimento**

**Nome:**

**Telefone:**

DDD e aceita número de celulares com 9 dígitos. colocar 0 antes para os demais telefones.

**E-mail:**

**Nome da instituição proponente:**

Indicar o nome da instituição na qual o projeto foi aprovado no CEP.

**Especificar outra instituição:**

**Estado:**

**Município:**

**Identificação do paciente**

**Nome:**

**Cartão SUS:**

**Data de nascimento:**

**Nome da mãe:**

**Sexo:**

- Feminino  
 Masculino  
 Não definido  
 Sem informação

**Nacionalidade:**

- Brasileira  
 Outra

Se outra, qual?

**Naturalidade:**

**Telefone 1:**

DDD e aceita número de celulares com 9 dígitos. colocar 0 antes para os demais telefones.

**Telefone 2:**  
DDD e aceita número de celulares com 9 dígitos. colocar 0 antes para os demais telefones.

**Endereço:**  
(Informação referente a época do diagnóstico)

**CEP:**  


**Ocupação:**  
(Informação referente a época do diagnóstico)

**Código CBO/IBGE:**



**Estado:**

**Município:**

**Tipo de residência:**

- Urbano  
 Rural

**Unidade de atendimento:**

**Número de registro do paciente da unidade de atendimento:**

**Data da abertura do prontuário:**

**Critério de inclusão do caso no protocolo**

**Tipo de caso:**

- Caso novo  
 Recaída (Casos com cultura positivas para *Cryptococcus* após 6 meses de tratamento efetivo)

**Diagnóstico laboratorial:**

Todos os exames positivos devem ser assinalados.

- Exame direto  
 Cultivo de espécimes clínicos  
 Pesquisa de antígeno capsular

**Exame direto?**

- Realizado e resultado positivo  
 Realizado e resultado negativo  
 Não realizado  
 Ignorado

**Material:**

- Líquor  
 Escarro  
 Outros

**Especificar outros:**



**Cultivo positivo de espécimes clínicos?**

- Sim
- Não

**Material:**

- Líquor
- Sangue
- Urina
- Escarro
- Lavado broncoalveolar
- Fragmentos de biópsia

**Pesquisa de antígeno capsular?**

- Realizado e resultado positivo
- Realizado e resultado negativo
- Não realizado
- Ignorado

**Método:**

- Látex
- Fita (imunocromatografia)

**Material (látex):**

- Líquor
- Urina
- Soro
- Plasma
- Sangue total
- Outros

**Especificar outros (látex):**

**Material (fita):**

- Líquor
- Urina
- Soro
- Plasma
- Sangue total
- Outros

**Especificar outros (fita):**

**Histopatologia?**

- Realizado e resultado positivo
- Realizado e resultado negativo
- Não realizado
- Ignorado

**Se outro(s) espécime(s) positivo(s), qual(is)?**

**Comorbidades / Fator de risco**

**HIV:**

(Se positivo sinalizar no campo 140 o ano do diagnóstico)

- Sim
- Não
- Ignorado

Não

**Período do tratamento:**

**Acompanhamento ambulatorial?**

Sim

Não

**Data do último atendimento:**

**Óbito?**

Sim

Não

**Data do óbito:**

**Criptococose foi a causa básica/principal do óbito?**

Sim

Não

**Outra causa do óbito:**

**Perda de acompanhamento?**

Sim

Não

#### Sequelas

**Sequelas:**

Sim

Não

**Qual seqüela?**

Amaurose

Deficit visual

Hidrocefalia

Convulsão

Outras

Ignorado

**Especificar outras sequelas:**

#### Conduta terapêutica

**Tratamento antifúngico:**

Não tratado

Anfotericina - deóxicolato

Anfotericina - lipossomal

Anfotericina - outra

Fluconazol

Itraconazol

Voriconazol

5-Fluocitosina

Ano do diagnóstico de HIV:

Linfócito TCD4 (número / mm<sup>3</sup>):

Carga viral (LOG):

Data do exame:  
(mais próximo do atual atendimento)

A criptococose foi a doença definidora de AIDS?

Sim

Não

Outras comorbidades:

	Sim	Não
Tuberculose:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hanseníase:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Neurosífilis:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
HTLV:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mucosite secundária à quimioterapia:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

História pregressa:

Hipertensão arterial sistêmica

Alcoolismo

Uso de drogas injetáveis

Uso de drogas inaláveis

Tabagismo

Outros

Se outros, especificar:

**Sistemas / órgãos envolvidos**

**Sistemas / órgãos envolvidos:**  
(A critério clínico e/ou evolutivo)

Se outros, especificar:

**Evolução**

**Internação?**

Sim

Não

Data da internação:

Data da saída:

Tipo de saída:

Alta

Óbito

Recebeu tratamento em regime hospital-dia?

Sim

Não

**Período do tratamento:**

**Acompanhamento ambulatorial?**

Sim

Não

**Data do último atendimento:**

**Óbito?**

Sim

Não

**Data do óbito:**

**Criptococose foi a causa básica/principal do óbito?**

Sim

Não

**Outra causa do óbito:**

**Perda de acompanhamento?**

Sim

Não

#### Sequelas

**Sequelas:**

Sim

Não

**Qual seqüela?**

Amaurose

Deficit visual

Hidrocefalia

Convulsão

Outras

Ignorado

**Especificar outras sequelas:**

#### Conduta terapêutica

**Tratamento antifúngico:**

Não tratado

Anfotericina - deoxicolato

Anfotericina - lipossomal

Anfotericina - outra

Fluconazol

Itraconazol

Voriconazol

5-Fluocitosina

- Não
- Ignorado

**Visão alterada?**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Qual alteração?**

- Visão dupla
- Apenas vultos
- Cegueira
- Outros

**Se outros, qual?**

**Escala de Glasgow:**  
ver tabela

**Outras manifestações clínicas:**

**Exame neurológico:**

	Sim	Não	Ignorado
Desvio conjugado do olhar:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Estrabismo:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Descerebração:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Extensão de membros superiores e inferiores	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rigidez de nuca:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Síndrome cerebelar:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Convulsão:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Exame neurológico**

**Pupilas:**

- Isocóricas
- Anisocóricas

**Sinais meníngeos:**

- Ausentes
- Presentes

**Outros sinais meníngeos:**

**Observações**

Descreva esquemas terapêuticos não contemplados e/ou outras observações relevantes.

**Observações:**

**Outras informações**

**Início definido?**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Início dos sintomas:**

- 1 semana
- 2 semanas
- 4 semanas
- 8 semanas
- 12 semanas
- > 3 meses
- outros
- Ignorado

**Especificar:**

**Sintomatologia geral**

**Queixa principal:**

**Febre:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Calafrios:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Tremores:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Perda de peso:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Percentual de perda:**

- < 10% peso corpóreo
- > 10% peso corpóreo
- Ignorado

**Cefaléia:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Outras informações**

**Preencher 2a. parte do formulário (versão estendida)?**

- Sim
- Não

**Preencher informações de fonte suspeita / Atividade de risco?**

- Sim  
 Não

**Fonte suspeita / Atividade de risco**

**Fonte suspeita / atividade de risco:**  
(Em qualquer momento da vida)

	Sim	Não	Sem informação
Outro caso de criptococose na família?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Outro caso de criptococose na vizinhança ou trabalho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Reside em casa de madeira sem pintura?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Residência temporária?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Residência permanente?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Trabalha em demolições?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Trabalha em madeireira?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Reside próximo a madeireira?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Exerce atividade de lavrador?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Contato recente com:**  
(Nos últimos 6 meses)

- Caverna/gruta  
 Toca de tatu  
 Excreta de morcegos  
 Excreta de aves  
 Galinheiro  
 Sem informação

**Viagem a área endêmica ou moradia prévia?**  
Ex. Norte e nordeste do Brasil, costa pacífica dos EUA e Canadá, e Austrália.

- Sim  
 Não  
 Sem informação

**Se sim, onde?**

**Outro fator de risco?**

- Sim  
 Não  
 Sem informação

**Se outro, qual?**

**Outras informações**

**Preencher informações de HDA e sintomatologia geral?**

- Sim  
 Não

**História da Doença Atual (HDA)**

**Sintomatologia inicial gerou suspeita clínica de criptococose?**

- Sim  
 Não  
 Ignorado

### Amostras clínicas

#### Preservação de Cryptococcus a partir de amostras clínicas

##### Estoque / preservação de Cryptococcus sp isolado:

- Sim  
 Não  
 Ignorado

##### Laboratório:

##### Registro de identificação dos isolados:

### Exames de imagem do sistema nervoso central

#### Descrever o exame mais próximo da admissão.

##### Exame(s) de imagem do crânio:

- TC  
 RSM

##### TC - Data:

##### TC - Resultado:

- Normal  
 Alterada

##### TC - Alterações:

	Sim	Não
Atrofia cerebral:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sinais de meningite: Realce meníngeo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Edema cerebral difuso:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Imagens compatíveis com criptococoma:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Efeito expansivo:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Imagens compatíveis com pseudocistos gelatinosos ou mucinosos:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hidrocefalia:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Sinais de síndrome hipertensiva:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Imagem compatível com acidente vascular cerebral:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

##### TC - Número:

- Nódulo único  
 Nódulo múltiplo

##### TC - Realce:

- Nodular  
 Anelar

##### RSM - Data:

##### RSM - Resultado:

- Normal



Alterada

**RSM - Alterações:**

Atrofia cerebral:  
Edema cerebral difuso:  
Hidrocefalia:  
Imagem compatível com acidente vascular cerebral:  
Imagens compatíveis com criptococoma:  
Imagens compatíveis com pseudocistos gelatinosos ou mucinosos:  
Sinais de meningite:  
Realce meníngeo  
Sinais de síndrome hipertensiva:

**RSM - Número:**

Nódulo único  
 Nódulo múltiplo

**RSM - Realce:**

Nodular  
 Anelar

**Caracterização sindrômica**

**Caracterização sindrômica:**

Meningítica  
 Meningoencefalítica  
 Encefálica

**Hidrocefalia:**

Sim  
 Não  
 Ignorado

**Hipertensão intracraniana:**

Sim  
 Não  
 Ignorado

**Processo expansivo cerebral:**

Sim  
 Não  
 Ignorado

**Pulmões**

**Sintomático:**

Sim  
 Não  
 Ignorado

**Respiração:**

Normal  
 Alterada  
 Ignorado

**Qual alteração?**

Irregular  
 Apnéia  
 Dispnéia

**Manifestações clínicas:**

	Sim	Não	Ignorado
Tosse:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dor torácica:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Expectoração:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Escarro hemóptico:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Desconforto respiratório agudo:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

#### Exames de imagem do tórax

##### Exames de imagem do tórax:

- Radiografia (RX)
- Tomografia (TC)

##### RX - Alterações:

- Sim
- Não

##### RX - Data:

##### RX - Infiltrados:

- Sim
- Não
- Ignorado

##### Se sim, especificar:

- Intersticial
- Alveolar
- Misto

##### RX - Nódulo:

- Sim
- Não
- Ignorado

##### Se sim, especificar:

- Único
- Múltiplo

##### RX - Massa:

- Sim
- Não
- Ignorado

##### Se sim, especificar:

- Único
- Múltiplo

##### RX - Linfadenopatia hilar e/ou mediastinal:

- Sim
- Não

##### RX - Derrame pleural:

- Sim
- Não
- Ignorado

##### RX - Cavitação:

- Sim
- Não

Ignorado

**RX - Outros:**

**TC - Alterações:**

Sim

Não

**TC - Data:**

**TC - Infiltrados:**

Sim

Não

**Se sim, especificar:**

Intersticial

Alveolar

Misto

**TC - Nódulo:**

Sim

Não

**Se sim, especificar:**

Único

Múltiplo

**TC - Massa:**

Sim

Não

**Se sim, especificar:**

Único

Múltiplo

**TC - Linfadenopatia hilar e/ou mediastinal:**

Sim

Não

**TC - Derrame pleural:**

Sim

Não

**TC - Cavitação:**

Sim

Não

**TC - Outros:**

#### **Criptococemia**

**Criptococemia:**  
Hemocultura positiva

Sim

Não

Data do exame:

**Manifestações clínicas:**

	Sim	Não	Ignorado
SARA:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Choque hemodinâmico:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hipotensão:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Coagulopatia intravascular disseminada:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Acidose metabólica:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Pele**

**Lesão cutânea:**

- Sim  
 Não  
 Ignorado

**Se sim, especificar:**

- Localizada  
 Disseminada

**Tipo da lesão:**

**Outros exames durante ou anterior a internação**

**Punção lombar:**

- Realizado  
 Não realizado  
 Contra-indicado

**Líquido céfalo-raquidiano:**

- Sim  
 Não

**Data:**

**Acesso punção:**

- LD  
 Ventricular  
 Sub-occipital

**Celularidade:**

total /mm<sup>3</sup>

**Específica:**

mononuclear .....% ...../mm<sup>3</sup>

**Polimorfonuclear:**

.....% ...../mm<sup>3</sup>

**Proteinorraquia:**

.....mg/dL

**Glicorraquia:**

.....mg/dL

**Glicemia:**  
.....mg/dL

**Observação:**

**Tinta de China:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Resultado - Tinta da China:**

- Positiva
- Negativa

**Coloração de Gram:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Resultado - Coloração de Gram:**

- Positivo
- Negativo

**Prova do látex para criptococco (Liquor):**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Resultado - Prova do látex:**

- Positiva
- Negativa

**Cultura para fungo:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Resultado - Cultura para fungo:**

- Positiva
- Negativa

**Criptococcus sp:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Especificar teste:**

- Testes de assimilação
- Em levedura fenol-oxidase positiva

**Especificar resultado:**

- C. gattii* (CGB positivo)
- C. neoformans* (CGB negativa)
- Outro

**Qual?**

**Prova do látex para *Cryptococcus* sp (Soro):**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Resultado:**

- Positivo
- Negativo

**Hemocultura realizada?**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Resultado:**

- Positiva
- Negativa

***Cryptococcus* sp:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Especificar teste:**

- Testes de assimilação
- Em levedura fenol-oxidase positiva

**Especificar resultado:**

- C. gattii* (CGB positivo)
- C. neoformans* (CGB negativa)
- Outro

**Qual?**

**Exames anatomopatológicos**

**Exame anatomopatológico de pele:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Presença de levedura capsulada:**

- Sim
- Não

**Exame anatomopatológico de linfonodo:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Presença de levedura capsulada:**

- Sim
- Não

**Exame anatomopatológico de pulmão:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Presença de levedura:**

- Sim
- Não

**Presença de levedura em outro tecido:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Qual tecido?**

**Exames cardiológicos**

**ECG:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Data:**

**Resultado:**

- Normal
- Alterado

**Descrição da alteração:**

**Ecocardiograma:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Data:**

**Resultado:**

- Normal
- Alterado

**Descrição da alteração:**

**Conduta terapêutica**

**Medicamentos utilizados na indução:  
até 4 semanas**

- Anfotericina
- Fluconazol
- Itraconazol
- Voriconazol

- Sim
- Não
- Ignorado

**Presença de levedura:**

- Sim
- Não

**Presença de levedura em outro tecido:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Qual tecido?**

**Exames cardiológicos**

**ECG:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Data:**

**Resultado:**

- Normal
- Alterado

**Descrição da alteração:**

**Ecocardiograma:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Data:**

**Resultado:**

- Normal
- Alterado

**Descrição da alteração:**

**Conduta terapêutica**

**Medicamentos utilizados na indução:  
até 4 semanas**

- Anfotericina
- Fluconazol
- Itraconazol
- Voriconazol



- Sim
- Não
- Ignorado

**Presença de levedura:**

- Sim
- Não

**Presença de levedura em outro tecido:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Qual tecido?**

**Exames cardiológicos**

**ECG:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Data:**

**Resultado:**

- Normal
- Alterado

**Descrição da alteração:**

**Ecocardiograma:**

- Sim
- Não
- Ignorado

**Data:**

**Resultado:**

- Normal
- Alterado

**Descrição da alteração:**

**Conduta terapêutica**

**Medicamentos utilizados na indução:  
até 4 semanas**

- Anfotericina
- Fluconazol
- Itraconazol
- Voriconazol

Fluconazol (ciclo 1)

**Data de início f1:**

Fluconazol (ciclo 1)

**Data de término f1:**

Fluconazol (ciclo 1)

**Segundo ciclo de tratamento? f:**

Fluconazol

Sim

Não

**Dose diária (mg) f2:**

Fluconazol (ciclo 2)

**Data de início f2:**

Fluconazol (ciclo 2)

**Data de término f2:**

Fluconazol (ciclo 2)

**Terceiro ciclo de tratamento? f:**

Fluconazol

Sim

Não

**Dose diária (mg) f3:**

Fluconazol (ciclo 3)

**Data de início f3:**

Fluconazol (ciclo 3)

**Data de término f3:**

Fluconazol (ciclo 3)

**Dose diária (mg) i1:**

Itraconazol (ciclo 1)

**Data de início i1:**

Itraconazol (ciclo 1)

**Data de término i1:**

Itraconazol (ciclo 1)

**Segundo ciclo de tratamento? i:**

Itraconazol

Sim

Não

**Dose diária (mg) i2:**

Itraconazol (ciclo 2)

**Data de início i2:**

Itraconazol (ciclo 2)

**Data de término i2:**

Itraconazol (ciclo 2)

**Terceiro ciclo de tratamento? i:**  
Itraconazol

- Sim  
 Não

**Dose diária (mg) i3:**  
Itraconazol (ciclo 3)

**Data de início i3:**  
Itraconazol (ciclo 3)

**Data de término i3:**  
Itraconazol (ciclo 3)

**Dose diária (mg) v1:**  
Voriconazol (ciclo 1)

**Data de início v1:**  
Voriconazol (ciclo 1)

**Data de término v1:**  
Voriconazol (ciclo 1)

**Segundo ciclo de tratamento? v:**  
Voriconazol

- Sim  
 Não

**Dose diária (mg) v2:**  
Voriconazol (ciclo 2)

**Data de início v2:**  
Voriconazol (ciclo 2)

**Data de término v2:**  
Voriconazol (ciclo 2)

**Terceiro ciclo de tratamento? v:**  
Voriconazol

- Sim  
 Não

**Dose diária (mg) v3:**  
Voriconazol (ciclo 3)

**Data de início v3:**  
Voriconazol (ciclo 3)

**Data de término v3:**  
Voriconazol (ciclo 3)

**Dose diária (mg) 5f:**  
5-fluocitosina (ciclo 1)

**Data de início 5f1:**  
5-fluocitosina (ciclo 1)

**Data de término 5f1:**  
5-fluocitosina (ciclo 1)

**Segundo ciclo de tratamento? 5f:**  
5-fluocitosina

- Sim  
 Não

**Dose diária (mg) 5f2:**  
5-fluocitosina (ciclo 2)

**Data de início 5f2:**  
5-fluocitosina (ciclo 2)

**Data de término 5f2:**  
5-fluocitosina (ciclo 2)

**Terceiro ciclo de tratamento? 5f:**  
5-fluocitosina

- Sim  
 Não

**Dose diária (mg) 5f3:**  
5-fluocitosina (ciclo 3)

**Data de início 5f3:**  
5-fluocitosina (ciclo 3)

**Data de término 5f3:**  
5-fluocitosina (ciclo 3)

**Esquema terapêutico de consolidação e manutenção?**  
Esquema terapêutico de consolidação (após indução) e manutenção (profilaxia secundária).

- Sim  
 Não

**Medicamentos utilizados na consolidação e manutenção:**

- Fluconazol  
 Itraconazol  
 Voriconazol  
 Outro medicamento

**Qual outro medicamento?**

**Dose diária (mg) f1:**  
Fluconazol (ciclo 1)

**Data de início f1:**  
Fluconazol (ciclo 1)

**Data de término f1:**  
Fluconazol (ciclo 1)

**Segundo ciclo de tratamento? f:**  
Fluconazol

- Sim  
 Não

**Dose diária (mg) f2:**  
Fluconazol (ciclo 2)

**Data de início f2:**

Fluconazol (ciclo 2)

**Data de término f2:**

Fluconazol (ciclo 2)

**Terceiro ciclo de tratamento? f:**

Fluconazol

Sim

Não

**Dose diária (mg) f3:**

Fluconazol (ciclo 3)

**Data de início f3:**

Fluconazol (ciclo 3)

**Data de término f3:**

Fluconazol (ciclo 3)

**Dose diária (mg) i1:**

Itraconazol (ciclo 1)

**Data de início i1:**

Itraconazol (ciclo 1)

**Data de término i1:**

Itraconazol (ciclo 1)

**Segundo ciclo de tratamento? i:**

Itraconazol

Sim

Não

**Dose diária (mg) i2:**

Itraconazol (ciclo 2)

**Data de início i2:**

Itraconazol (ciclo 2)

**Data de término i2:**

Itraconazol (ciclo 2)

**Terceiro ciclo de tratamento? i:**

Itraconazol

Sim

Não

**Dose diária (mg) i3:**

Itraconazol (ciclo 3)

**Data de início i3:**

Itraconazol (ciclo 3)

**Data de término i3:**

Itraconazol (ciclo 3)

**Dose diária (mg) v1:**

Voriconazol (ciclo 1)

Fluconazol (ciclo 2)

**Data de término f2:**  
Fluconazol (ciclo 2)

**Terceiro ciclo de tratamento? f:**  
Fluconazol

- Sim  
 Não

**Dose diária (mg) f3:**  
Fluconazol (ciclo 3)

**Data de início f3:**  
Fluconazol (ciclo 3)

**Data de término f3:**  
Fluconazol (ciclo 3)

**Dose diária (mg) i1:**  
Itraconazol (ciclo 1)

**Data de início i1:**  
Itraconazol (ciclo 1)

**Data de término i1:**  
Itraconazol (ciclo 1)

**Segundo ciclo de tratamento? i:**  
Itraconazol

- Sim  
 Não

**Dose diária (mg) i2:**  
Itraconazol (ciclo 2)

**Data de início i2:**  
Itraconazol (ciclo 2)

**Data de término i2:**  
Itraconazol (ciclo 2)

**Terceiro ciclo de tratamento? i:**  
Itraconazol

- Sim  
 Não

**Dose diária (mg) i3:**  
Itraconazol (ciclo 3)

**Data de início i3:**  
Itraconazol (ciclo 3)

**Data de término i3:**  
Itraconazol (ciclo 3)

**Dose diária (mg) v1:**  
Voriconazol (ciclo 1)

## APÊNDICE C

*Article*

# High cryptococcosis lethality – lessons from a middle upper income country

Waleriano Ferreira de Freitas <sup>1,a</sup>, Joaquim Lucas, Jr. <sup>2,3,a</sup>, Herdson Renney de Sousa <sup>1</sup>, Amabel Fernandes Correia <sup>4</sup>, Stefânia de Oliveira Frazão <sup>5</sup>, Lucas Gomes de Brito Alves <sup>1</sup>, Verenice Paredes <sup>1</sup>, Ildinete Silva-Pereira <sup>5</sup>, Maria Sueli Soares Felipe <sup>3</sup>, Hugo Costa Paes <sup>1</sup>, Patrícia Albuquerque <sup>5,6</sup>, Marcus de Melo Teixeira <sup>1</sup>, Vitor Laerte Pinto, Jr. <sup>2</sup>, André Moraes Nicola <sup>1,\*</sup>

**Citation:** Lucas Jr., J.; Freitas, W.F.; Sousa, H.R; et al. **Title**. *J. Fungi* 2022, 8, x. <https://doi.org/10.3390/xxxxx>

Academic Editor: Firstname  
Lastname

Received: date

Accepted: date

Published: date

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors.  
Submitted for possible open access  
publication under the terms and  
conditions of the Creative Commons

- <sup>1</sup> Faculty of Medicine, University of Brasília, Brasília, DF 70910-900, Brazil; [walerianof@gmail.com](mailto:walerianof@gmail.com) (W.F.d.F.), [herdson10@gmail.com](mailto:herdson10@gmail.com) (H.R.d.S.); [lucasgbalves@gmail.com](mailto:lucasgbalves@gmail.com) (L.G.d.B.A.); [vereniceph@gmail.com](mailto:vereniceph@gmail.com) (V.P.); [sorumbatico@gmail.com](mailto:sorumbatico@gmail.com) (H.C.P.); [marcus.teixeira@gmail.com](mailto:marcus.teixeira@gmail.com) (M.d.M.T.); [amnicola@unb.br](mailto:amnicola@unb.br) (A.M.N.)
  - <sup>2</sup> Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz-Brasília), Brasília, DF 70904-130, Brazil; [joaquim.unir@hotmail.com](mailto:joaquim.unir@hotmail.com) (J.L.J.); [viktorlaerte@gmail.com](mailto:viktorlaerte@gmail.com) (V.L.P.J.)
  - <sup>3</sup> Graduate Program in Genomic Sciences and Biotechnology, Catholic University of Brasília, Brasília, DF 70790-160, Brazil; [msueliunb@gmail.com](mailto:msueliunb@gmail.com)
  - <sup>4</sup> Central Public Health Laboratory (Lacen-DF), Brasília, DF 70830-010, Brazil; [amabelfernandes@hotmail.com](mailto:amabelfernandes@hotmail.com)
  - <sup>5</sup> Laboratory of Molecular Biology of Pathogenic Fungi, Institute of Biological Sciences, University of Brasília, Brasília, DF 70910-900, Brazil; [stefania.frazao27@gmail.com](mailto:stefania.frazao27@gmail.com) (S.d.O.F.); [ildinetesp@gmail.com](mailto:ildinetesp@gmail.com) (I.S.-P.); [palbuquerque@unb.br](mailto:palbuquerque@unb.br) (P.A.)
  - <sup>6</sup> Faculty of Ceilândia, University of Brasília, Brasília, DF 72220-275, Brazil
- <sup>a</sup> These authors contributed equally and share first authorship.  
<sup>\*</sup> Correspondence: [amnicola@unb.br](mailto:amnicola@unb.br).

**Abstract:** Cryptococcosis is an invasive mycosis that kills approximately 112,000 people per year. *Cryptococcus* spp. most commonly cause meningoencephalitis in immunocompromised people, especially those with HIV/AIDS. As part of an epidemiological and translational study, we have systematically collected patient information and clinical isolates from cases of cryptococcosis in Brasília, central Brazil. Data from 2014 – 2019 revealed a high 10-week lethality rate of 38.7%, which surprised us given the reasonable public health infrastructure in the Brasília region. Here we investigated possible reasons for this high lethality and suggest solutions that could also impact cryptococcosis care in similar regions of the world. The cohort included 100 cases of cryptococcosis, with a mean age of 40.1 years. Of the patients, 70% were male and 66% were HIV positive (median CD4<sup>+</sup> count of 49 cells/mm<sup>3</sup>). *C. neoformans* was the most prevalent species and the central nervous system was the most affected organ. Some aspects we observed that could be related with the high lethality are lack of flucytosine treatment, delays in diagnosis and treatment and failure to follow established therapeutic guidelines, including performing lumbar punctures. These results highlight public health measures that could improve the outcome of cases of cryptococcosis.

**Keywords:** Cryptococcosis; lethality; amphotericin B; *Cryptococcus neoformans*; *Cryptococcus gattii*.

---

## 1. Introduction

Cryptococcosis is a disease caused by fungi from the genus *Cryptococcus*, and most frequently presents as a central nervous system (CNS) infection, with meningoencephalitis or meningitis. Opportunistic cryptococcosis, the most common form, is cosmopolitan and occurs mostly in acquired



immunodeficiency syndrome (AIDS) patients, although other conditions of cellular immunity deficiency such as leukemias, lymphomas, diabetes, and post-transplant immunosuppression are also important risk factors [1,2]. It is the third most prevalent opportunistic infectious disease in individuals with AIDS, being the most important systemic mycosis in this population [3,4]. In contrast with opportunistic disease, primary cryptococcosis is endemic in tropical and subtropical regions, with a recent expansion to the northwest region of North America [5-7]. It often manifests as CNS disease as well, but can affect the lungs, skin, and other organs without evidence of immunosuppression. The genus *Cryptococcus* has about 70 species, but the most important agents of opportunistic and primary/endemic cryptococcosis are, respectively, the *C. neoformans* and *C. gattii* species complexes [3].

After inhalation, *Cryptococcus* spp. yeast cells or spores may cause pneumonia in patients with compromised cellular immunity. However, in immunocompetent people, the infection is almost always cleared or leads to an asymptomatic latent infection. In the presence of immunosuppression, latent fungi spread systemically, notably the central nervous system (CNS) [8-13]. The disease can be diagnosed by culture or direct observation of encapsulated yeast cells, but the most important diagnostic tool is a lateral flow immunochromatography test that detects the cryptococcal antigen (CrAg-LFA). This test leads to early and rapid diagnoses, even preceding the onset of meningitis by weeks [14-18]. The mainstay of treatment is amphotericin B alone or associated with flucytosine or fluconazole, the latter two with good penetration into the CNS; the best results are obtained by associating amphotericin B with 5-flucytosine [19-24].

To study the epidemiology and clinical aspects of cryptococcosis in Brazil, several Brazilian researchers formed a network called the Brazilian Cryptococcosis Network (Rede Criptococose Brasil – RCB). Our group joined this network and collected between 2014 and 2019 *Cryptococcus* strains and patient data from the cases of cryptococcosis that happened in Brasília, located in the central region of the country. We were surprised by the high cryptococcosis lethality we observed in the Brazilian capital, a region with good medical and hospital infrastructure and access to inpatient care and antifungals. Given that most of the literature focuses on cryptococcosis in high-income regions, which have better research infrastructure, or low-income regions where most people that are affected by and die from cryptococcosis live, understanding the reasons that led to this high lethality in our region can fill a gap with important public health impact. In this paper, we describe the epidemiology of cryptococcosis in this region of Brazil and possible reasons for this high lethality.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Design

A historical cohort study was carried out with data collected from patients in Brasília, Brazil, from 2014 to 2019. Cases occurring in public hospitals were notified to the study team by healthcare professionals working on hospitals and diagnostic laboratories. After obtaining informed consent, we collected laboratory, demographic, and clinical data from their electronic medical records. Patients with a diagnosis of cryptococcosis by direct observation in India ink or histopathology, culture, or serological tests (CrAg-LFA) were included in the study. Only the first episode of cryptococcosis was considered for this analysis. We also evaluated lethality at 2 and 10 weeks after the diagnosis of cryptococcosis.

### 2.2. Fungal isolates

Clinical specimens were sent to the Central Laboratory of Public Health for Sabouraud dextrose agar cultures at 28°C for 7 to 14 days. *Cryptococcus* spp. isolates were then submitted to a series of laboratory tests: culture in canavanine glycine bromothymol blue (CGB) agar media at 28°C to differentiate *C. neoformans* and *C. gattii* species complexes, light microscopy with India ink staining and matrix-assisted laser desorption/ionization – time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry identification.

To more accurately determine each isolate's molecular identity, they were grown in YPD liquid medium at 30°C for 5 days to obtain DNA using phenol-chloroform extraction. DNA quality and quantity were evaluated using 1% agarose gel electrophoresis and spectrophotometry in a NanoDrop 1000c equipment.

PCR reactions were performed with these samples using URA5F (5' ATGCCTCCCAAGCCCTCGAC 3') and URA5R (5' TTAAGACCTCTGAACACCGTACTC 3') oligonucleotides, which amplify a 601 bp segment of the URA5 gene [25]. Amplicons were evaluated by agarose gel electrophoresis, purified with the QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen) and quantified by spectrophotometry. The purified and quantified amplicons were Sanger sequenced on an ABI 3130xl equipment with BigDye v1.3 chemistry.

Electropherograms were visually inspected and sequence stretches nucleotide bases with Phred > 30 were used for DNA alignments at <http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph/>. The sequences were aligned with of other type or neotype isolates from each of the seven species of the *C. gattii* / *C. neoformans* species complexes deposited in GENBANK [26] in the BioEdit software [27] using the ClustalW algorithm [28]. Misaligned bases were manually corrected for phylogenetic analysis using the Maximum Likelihood (ML) method on IQTREE v1.6 software; nucleotide substitution model for the

selected locus was performed using hierarchical tests [29]. Genetic branch fidelity was assessed with ultrafast bootstraps and Shimodaira – Hasegawa-like approximate likelihood ratio test (SH-aLRT) [30,31]. Phylogenetic trees were built using FigTree v1.3 software (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

### 2.3. Statistical Analysis

We used descriptive statistics to summarize clinical, laboratory, and demographic variables. For data analysis, p values less than 0.05 were considered significant. Differences between groups were determined using the t-test for normally distributed data and the Mann-Whitney U test for independent samples when data were not normally distributed. To compare proportions, the chi-square test or Fisher's exact test was used when less than 5 events were present in any cell. Survival was measured using the log-rank test. All tests were two-tailed and were performed in IBM SPSS software.

The study was approved by the Research Ethics Committee of the FEPECS- Foundation for Education and Research in Health Sciences of the Health Department of the Federal District under number 882.291 and 942.633.

## 3. Results

### 3.1. Clinical characteristics

The study was carried out with a total of 100 patients, with a mean age of 40.1 years, with the most prevalent age group being affected by young adults between 19 and 40 years of age (42%) and adults between 41 and 60 years of age. (39%) (table 1). Patients older than 60 years and younger than 18 years represented 9% and 10%, respectively. Males represented 70% of patients.

**Table 1.** Patient characteristics.

Variable	n	Values
Age	100	40.1 ± 17 years (mean ± sd)
Age group	100	10% children/adolescents (0-18); 42% young adults (19-40); 39% adults (41-60); 9% elderly (>60).
Gender	100	70% male, 30% female
Species complex	80	69 (86,25%) <i>C. neoformans</i> , 11 (13,75%) <i>C. gattii</i>
Type of cryptococcosis	100	89% CNS; 5% pulmonary; 3% cutaneous; 3% blood stream
HIV status	100	66% positive 28% negative 6% not known
CD4 count (cells/mm <sup>3</sup> )	51	Median: 49. Range: 4 - 534

Cryptococcosis was AIDS-defining?	66	45,5%% yes; 54,5% no
Time of HAART initiation	23	< 2 weeks: 5 (21,74%); 2 e 4 weeks: 6 (26,09%); 5 e 6 weeks: 12 (52,17%).
Time from symptom onset to treatment (days)	90	Median: 42,5; range: 0 – 318
Intracranial hypertension	100	41% yes (4 IH without pressure measurement); 15% no; 44% not evaluated
CSF opening pressure (cmH <sub>2</sub> O)	52	Median: 33,5. Range: 10 – 100
Lethality in 2 weeks	100	26.9%
Lethality in 10 weeks	100	38.7%

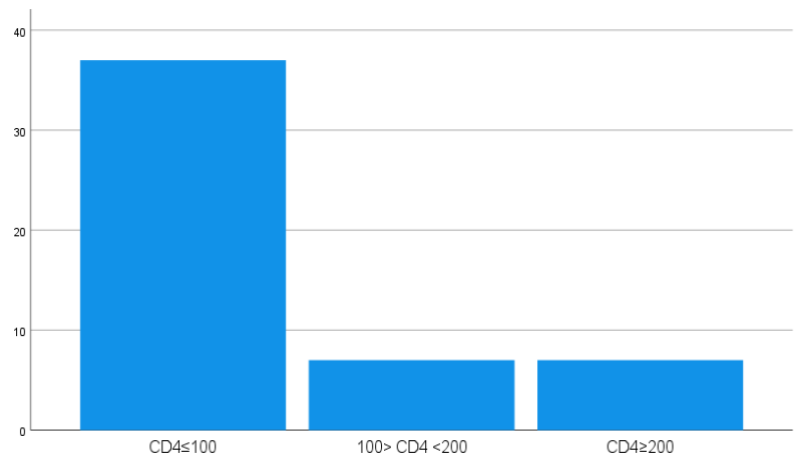
<sup>1</sup> Sd: standard deviation. CNS: central nervous system. HIV: human immunodeficiency virus. CD4: CD4+ T lymphocytes. AIDS: acquired immunodeficiency syndrome. HAART: highly active antiretroviral. CSF: cerebrospinal fluid.

Central nervous system involvement occurred in 89% of patients, pulmonary in 5%, bloodstream or skin in 3%, respectively. Of the 80 samples submitted to genotyping by sequencing the URA5 gene, obtained from different patients, 69 (86.25%) were from *C. neoformans* and 11 (13.75%) were from *C. gattii*.

### 3.2. HIV characteristics

Acquired immunodeficiency virus infection was present in 66% of patients, ruled out in 28% and not tested in 6% of study participants. Of the seropositive patients, 36 (54.8%) already had a long-standing viral infection and in 30 (45.2%) cryptococcosis and HIV infection were diagnosed at practically the same time.

The median of CD4+ T lymphocytes was 49 cells/mm<sup>3</sup>, with a wide range of values. Of the 51 patients with measurements of CD4 values, the median was 46 cells/mm<sup>3</sup> in patients with old HIV infection and 54 cells/mm<sup>3</sup> in patients in which this fungal disease, acting as an opportunistic agent, characterized the acquired immunodeficiency syndrome (p: 0.78; Mann-Whitney test). The distribution of CD4 values is concentrated below 200 cells/mm<sup>3</sup>, with 72.55% below 100 cells/mm<sup>3</sup>, with 13.73% between 100 and 200 CD4 and the remaining 13.73% above 200 cells/mm<sup>3</sup> (figure 1).



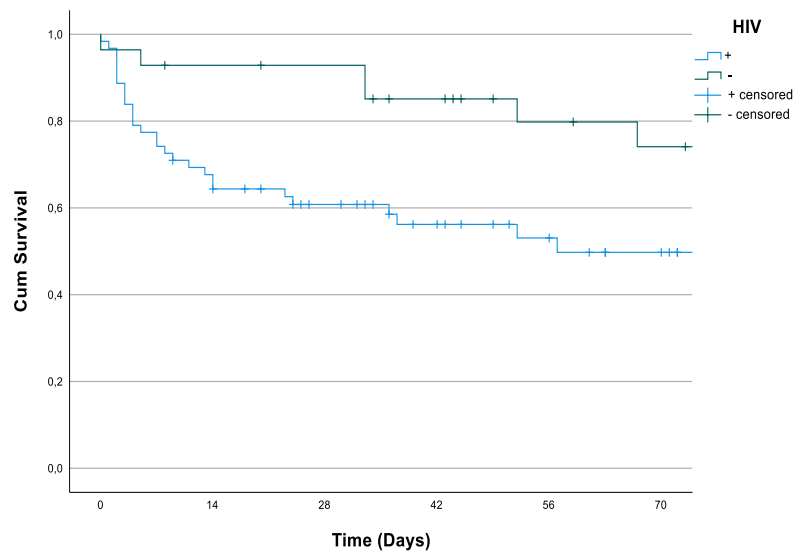
**Figure 1.** CD4 T lymphocyte count stratification.

### 3.3. Intracranial hypertension, treatment, and lethality

Of the 100 individuals involved in the study, the measurement of opening pressure in the lumbar puncture was not recorded in 44% of these patients. In 15% of patients, the opening pressure was < 25 cm H<sub>2</sub>O and in 41% ≥ 25 cm H<sub>2</sub>O. In patients undergoing assessment of opening pressure, the median was 33.5 cm H<sub>2</sub>O, but with pressures as high as 100 cm H<sub>2</sub>O. In four patients, the definition of the opening pressure occurred through the presence of papilledema or due to signs of cerebral edema on the imaging exam.

Of the 100 patients in this study, 4 patients had a high scarcity of data, including no information regarding treatment. Of the remainder, 15 patients did not receive any type of specific treatment for cryptococcal disease or did not have time to start prescribed medications, and 81 underwent therapies aimed at this fungal infection. The time between onset of fungal infection symptoms and initiation of cryptococcosis-targeted therapy had a median of 42.5 days.

Lethality at two and ten weeks was 26.9% and 38.7%, respectively. In 7 patients, the outcome at these intervals could not be measured due to the absence of data related to this fact. When the 10-week lethality was evaluated in 90 patients with HIV testing, a shorter survival time was found in the HIV-positive group ( $p=0.016$ , Log Rank test) and an early unfavorable evolution in these patients (Figure 2).



**Figure 2.** 10-week survival.

### 3.4. Comparison between HIV-positive and non-HIV patients

When only the 94 patients with HIV serological status were evaluated, the majority were male in both groups, with no statistical difference ( $p=0.249$ ), as well as the mean age ( $p=0.847$ ) of 38.65 years for HIV positive and 39.50 for HIV negative. Of the 51 patients who underwent serology for HIV and had the opening pressure measured in the lumbar puncture (51 patients), 69% of the HIV positive patients had intracranial hypertension and 68.2% of those without this viral infection ( $p=0.952$ ). Table 2.

This same number of patients showed no statistical difference in terms of median CSF opening pressure, with 32 cm H<sub>2</sub>O for seropositive patients and 33.5 cm H<sub>2</sub>O for seronegative patients. Table 2

The median time between the onset of symptoms and the first prescription of antifungals targeting cryptococcosis was longer in HIV-seronegative patients ( $p=0.034$ ). Table 2

Among the patients tested for HIV, there was a high prevalence of *C. neoformans* in both groups, however with 98.11% of the seropositive patients with *C. neoformans* and 63.63% of the seronegative ones ( $p<0.001$ ). In patients with central nervous system (CNS) involvement and evaluation of the HIV status, non-adherence to treatment recommendations were higher in seropositive patients when compared to seronegative patients ( $p=0.005$ ). In patients evaluated for their

HIV status, lethality at 2 weeks was statistically higher in seropositive patients (p=0.005) as well as at 10 weeks (p=0.032).  
Table 2

**Table 2.** Comparison between HIV-positive and non-HIV patients

Variable	HIV-positive	Non-HIV	p value
Gender (n = 94)	72.7% (48/66)	60.7% (17/28)	0.249
Age (n = 94)	38,65; 17 a 66 (n=66)	39,50; 2 a 73 (n=28)	0.847
Intracranial hypertension (n = 51)	69% (20/29)	68.2% (15/22)	0.952
CSF opening pressure (cmH <sub>2</sub> O) (n = 51)	32; 14 to 100 (n=29)	33.5; 10 to 100 (n=22)	0.790
Time from symptom onset to treatment (n = 87)	35; 0 to 211 (60/66)	46; 12 to 318 (27/28)	0.034
Species n = 75 ( <i>C.neoformans</i> ) (n = 75)	98.11% (52/53)	63,63% (14/22)	<0.001
Non-adherence to guidelines (n = 85) (CNS)	73.77% (n=61)	41.66% (n=24)	0.005
Lethality 2 weeks (n = 90)	35.48% (n=62)	7.14% (n=28)	0.005
Lethality 10 weeks (n = 90)	45.16% (n=62)	21.42% (n=28)	0.032

\* Gender: male. Age: years (mean). CSF: cerebrospinal fluid (median). Time: days (median).

#### 4. Discussion

The estimated one-year mortality in patients with AIDS and cryptococcal meningitis in low-income countries is up to 70%, in contrast with figures ranging from 20 to 30% in developed countries (WHO, 2018). The high lethality rate in low- and middle-income countries is related to poor HIV/AIDS diagnosis and large differences in the distribution of health resources in these areas [32], which makes the access to antifungals and inpatient care difficult.

In this study, most patients are in the age group of the economically active population and with a high prevalence in males, in addition to a large part with positive serology for HIV, which brings a great personal and social burden [33].

HIV infection (66%) was the main comorbidity found, however, 28% were negative, in accordance with a recent study that showed that 40% of patients with cryptococcosis were not HIV positive [33,34]. Emphasizing the importance of raising awareness among health professionals about the possibility of cryptococcosis in HIV-negative patients, not delaying the diagnosis or measures to control possible intracranial hypertension [35,36].

A high prevalence of *C. neoformans* over *C. gattii* was observed, in addition to a marked presence of the former in HIV-positive patients, as reported in the literature of this opportunistic behavior of *C. neoformans* [37]. This link to situations of cellular immunity deficiency highlights the need to strengthen adherence to antiretroviral drugs to avoid the resurgence of immunodeficiency [38], which unfortunately occurred in more than half of the seropositive patients in this

study who abandoned HIV treatment and developed cryptococcosis.

The assessment of intracranial hypertension (ICH) occurred in 66% of the patients, with 41% presenting increased pressure, with a median of 33.5 cm H<sub>2</sub>O, drawing attention to a large portion without measurement of CSF opening pressure. ICH commonly presents with symptoms, but a proportion of patients may have elevated blood pressure without manifestations, and failure to recognize this condition may be associated with failure and death [35]. Thus, to improve the outcome of these patients, bringing the ICH to normal values must be a goal in the management of these patients and, sometimes, more than one daily relief lumbar puncture may be necessary [39].

In this study, in patients tested for HIV and with CNS involvement, the lethality of cryptococcosis was higher and statistically significant in HIV-positive patients both at 2 and 10 weeks, highlighting the significant lethality of cryptococcosis at 2 weeks in seropositive patients. This high early lethality is possibly directly linked to cryptococcosis and was more prominent in seropositive patients as found in the survival analysis and improving early interventions can reduce these deaths [12].

Despite the increase in knowledge about AIDS, the expansion of access to antiretrovirals and the creation of rapid tests for the diagnosis of cryptococcosis, the lethality linked to this fungal disease when associated with HIV remains high, as previously observed [40].

The WHO recommends the rapid test for cryptococcosis of patients with CD4 T lymphocytes < 100 cells/mm<sup>3</sup>, in this study the median LTCD4 was 49 cells/mm<sup>3</sup>, without statistical significance between patients newly diagnosed with HIV or not, making it clear the need for early diagnosis and strengthening adherence to ARV measures to maintain an adequate cell-mediated immune response, which is fundamental in the control of cryptococcosis [12].

In the scenario of this study, with the median LTCD4 < 100 cells/mm<sup>3</sup>, the reflexing test strategy, which consists of performing the immunochromatographic test for cryptococcosis (CrAg) in the serum of all patients with CD4 < 100 cells/mm<sup>3</sup>, would allow maximizing the screening and diagnosis of patients with this fungal disease as recommended by the WHO and already carried out in some African countries [41], highlighting the importance of disseminating this technology as provided for in national guidelines [42].

Among these patients with positive HIV serology, most had CD4 < 50 cells/mm<sup>3</sup>, reinforcing the need to rule out cryptococcosis with CrAg in patients who were so immunosuppressed before starting ARVs, whether in patients



with recent diagnosis or in those who had abandoned antiretrovirals [42].

Thus, investigating and detecting cryptococcosis in these patients allows the introduction of preemptive therapy for cryptococcosis with fluconazole in patients without disseminated disease or CNS involvement or even the use of liposomal amphotericin B, given some questions about preemptive therapy with fluconazole and persistent high lethality [43].

It should be made clear that the screening strategy and preemptive therapy with CrAg in patients with CD4 < 100 cells/mm<sup>3</sup> is cost effective as already evidenced in studies in Africa, in addition to being part of the WHO recommendations [14,44].

In this context, access to rapid tests in emergency services would allow the prompt identification of patients with human immunodeficiency virus infection by means of a drop of blood and similarly, in sequence, of the fungal infection, thus, subsequently, performing diagnostic and relief lumbar puncture due to prior knowledge of cryptococcosis as a potential causative factor of intracranial hypertension if present [45-47].

Obviously, as it is an invasive procedure and requires specific material for its performance, lumbar puncture can present itself as a challenge in some parts of the world, however, this fact cannot apply to the Brazilian capital, which has wide hospital network and high doctor/inhabitant ratio [48].

The measurement of opening pressure in lumbar puncture can be an obstacle for some professionals, especially when handling the rachimonometer or in its absence. In the absence of this device, an equipment used in the infusion of saline solution could be used and the height of the cerebrospinal fluid column measured after such a procedure, as already reported in the literature [49].

In this context, the awareness of health professionals regarding neurological manifestations and headache in patients with advanced HIV tends to a rapid referral of these patients to specialized centers capable of managing the intercurrents arising from this fungal infection and the toxicity linked to the medications used in the treatment [50,51].

In the same way, low adherence was observed, there are constant recommendations in national and international guidelines, such as control of intracranial hypertension, amphotericin B-based therapies, time to start antiretroviral therapy in seropositive patients, factors that tend to bring unfavorable results, in this context, the worst adherence to such guidelines stands out, especially in the management of patients with HIV. Studies in other areas have already shown poor medical adherence to guideline recommendations [52].

Most patients used liposomal amphotericin during induction therapy, with most patients also using high-dose fluconazole associated with amphotericin B, according to the literature [53,54]. The use of amphotericin B as the basis of therapy for cryptococcal disease is fundamental, given its fungicidal action, contributing to rapid fungal clearance and, therefore, lower mortality, despite the consequences of its use after the first 7 days of treatment and its low penetration into the cerebrospinal fluid [12,55-57].

A higher median time to start treatment was found for patients with negative serology for HIV, a worrying fact since one third of the cases occurred in patients without this comorbidity and the delay in diagnosis can increase the chance of an unfavorable evolution as well as sequelae due to late therapy. This fact may be associated with the negligence of health teams regarding the diagnosis of cryptococcosis in HIV-negative patients, which is not insignificant as shown in this and other studies [33,40].

Despite the existence of guidelines for the management of seropositive patients with cryptococcosis in the central nervous system, non-adherence to these recommendations was significantly relevant in these patients, which may be a sad explanation for the high lethality among these patients as observed.

Difficulties such as late diagnosis, inadequate management of intracranial hypertension, high degree of immunosuppression in HIV-positive patients, whether with a recent diagnosis of viral infection, which shows how late this discovery is being made, in addition to patients already known to have AIDS with low adherence to antiretroviral drugs apart from the virulence of the infectious agent in question may explain the high lethality rate in this study, which was 26.9% in two weeks and 38.7% in ten weeks, which shows the severity of this disease and the need for high suspicion for a timely diagnosis. This lethality, compared to other studies about cryptococcosis in seropositive patients, which can be around 30% [33].

This study has limitations such as the use of secondary data and, consequently, the lack of information in the records of some patients, and it did not gather patients from the private health network.

## **5. Conclusions**

Despite the national strategy for the universal treatment of patients with HIV, an initiative with the potential to preserve the immune response of these patients, a fundamental element in the prevention and adequate response to the treatment of cryptococcosis, there is a need to improve the early diagnosis of HIV and adherence to the treatment.

In this way, when these barriers fail as a measure to prevent cryptococcosis in seropositive patients, it becomes essential to raise awareness among health professionals about neuroinfectious caused by fungi, especially in the context of patients with AIDS, given the high lethality of cryptococcosis.

In the scenario of dissemination of knowledge about cryptococcosis in patients with HIV, it is relevant to emphasize the presence of this agent as responsible for infections in other conditions that weaken cellular immunity or in patients without any detectable immune alteration.

**Supplementary Materials:** A supplementary table with the complete dataset for the patients described in this manuscript can be downloaded at: [www.mdpi.com/xxx/s1](http://www.mdpi.com/xxx/s1).

**Funding:** A.M.N was funded by FAP-DF awards 0193.001048/2015-0193.001561/2017 and the CNPq grant 437484/2018-1. M.S.S.F was supported by FAP-DF/PRONEX award 193.001.533/2016.

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the FEPECS/SES-DF Research Ethics Committee (CAAE 37904214.7.1001.5553, approved 02/02/2015).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study. The form included consent to publish this paper.

**Data Availability Statement:** The full dataset used in this study is available on supplementary table 1.

**Acknowledgments:** We would like to thank the healthcare workers who cared for and diagnosed the cryptococcosis patients in Brasília, Brazil.

**Conflicts of Interest:** The authors have declared that no conflict of interest exists. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

## References

1. Correa Mdo, P.; Oliveira, E.C.; Duarte, R.R.; Pardal, P.P.; Oliveira Fde, M.; Severo, L.C. [Cryptococcosis in children in the State of Para, Brazil]. *Rev Soc Bras Med Trop* **1999**, *32*, 505-508.
2. Prattes, J.; Heldt, S.; Eigl, S.; Hoenigl, M. Point of Care Testing for the Diagnosis of Fungal Infections: Are We There Yet? *Curr Fungal Infect Rep* **2016**, *10*, 43-50, doi:10.1007/s12281-016-0254-5.
3. Gullo, F.P.; Rossi, S.A.; Sardi Jde, C.; Teodoro, V.L.; Mendes-Giannini, M.J.; Fusco-Almeida, A.M. Cryptococcosis: epidemiology, fungal resistance, and new alternatives for treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2013**, *32*, 1377-1391, doi:10.1007/s10096-013-1915-8.
4. Wiesner, D.L.; Boulware, D.R. *Cryptococcus*-Related Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome(IRIS): Pathogenesis and Its Clinical Implications. *Curr Fungal Infect Rep* **2011**, *5*, 252-261, doi:10.1007/s12281-011-0064-8.

5. Alves Soares, E.; Lazera, M.D.S.; Wanke, B.; Faria Ferreira, M.; Carvalhaes de Oliveira, R.V.; Oliveira, A.G.; Coutinho, Z.F. Mortality by cryptococcosis in Brazil from 2000 to 2012: A descriptive epidemiological study. *PLoS Negl Trop Dis* **2019**, *13*, e0007569, doi:10.1371/journal.pntd.0007569.
6. Chen, S.C.; Meyer, W.; Sorrell, T.C. *Cryptococcus gattii* infections. *Clin Microbiol Rev* **2014**, *27*, 980-1024, doi:10.1128/CMR.00126-13.
7. Lindsley, M.D.; Mekha, N.; Baggett, H.C.; Surinthong, Y.; Autthateinchai, R.; Sawatwong, P.; Harris, J.R.; Park, B.J.; Chiller, T.; Balajee, S.A.; et al. Evaluation of a newly developed lateral flow immunoassay for the diagnosis of cryptococcosis. *Clin Infect Dis* **2011**, *53*, 321-325, doi:10.1093/cid/cir379.
8. Srikanta, D.; Santiago-Tirado, F.H.; Doering, T.L. *Cryptococcus neoformans*: historical curiosity to modern pathogen. *Yeast* **2014**, *31*, 47-60, doi:10.1002/yea.2997.
9. May, R.C.; Stone, N.R.; Wiesner, D.L.; Bicanic, T.; Nielsen, K. *Cryptococcus*: from environmental saprophyte to global pathogen. *Nat Rev Microbiol* **2016**, *14*, 106-117, doi:10.1038/nrmicro.2015.6.
10. Scriven, J.E.; Graham, L.M.; Schutz, C.; Scriba, T.J.; Wilkinson, K.A.; Wilkinson, R.J.; Boulware, D.R.; Urban, B.C.; Meintjes, G.; Lalloo, D.G. The CSF Immune Response in HIV-1-Associated Cryptococcal Meningitis: Macrophage Activation, Correlates of Disease Severity, and Effect of Antiretroviral Therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* **2017**, *75*, 299-307, doi:10.1097/QAI.0000000000001382.
11. Kim, J.Y. Human fungal pathogens: Why should we learn? *J Microbiol* **2016**, *54*, 145-148, doi:10.1007/s12275-016-0647-8.
12. Jarvis, J.N.; Bicanic, T.; Loyse, A.; Namarika, D.; Jackson, A.; Nussbaum, J.C.; Longley, N.; Muzoora, C.; Phulusa, J.; Taseera, K.; et al. Determinants of mortality in a combined cohort of 501 patients with HIV-associated Cryptococcal meningitis: implications for improving outcomes. *Clin Infect Dis* **2014**, *58*, 736-745, doi:10.1093/cid/cit794.
13. Warkentien, T.; Crum-Cianflone, N.F. An update on *Cryptococcus* among HIV-infected patients. *Int J STD AIDS* **2010**, *21*, 679-684, doi:10.1258/ijisa.2010.010182.
14. Rajasingham, R.; Meya, D.B.; Greene, G.S.; Jordan, A.; Nakawuka, M.; Chiller, T.M.; Boulware, D.R.; Larson, B.A. Evaluation of a national cryptococcal antigen screening program for HIV-infected patients in Uganda: A cost-effectiveness modeling analysis. *PLoS One* **2019**, *14*, e0210105, doi:10.1371/journal.pone.0210105.
15. Antinori, S.; Radice, A.; Galimberti, L.; Magni, C.; Fasan, M.; Parravicini, C. The role of cryptococcal antigen assay in diagnosis and monitoring of cryptococcal meningitis. *J Clin Microbiol* **2005**, *43*, 5828-5829, doi:10.1128/JCM.43.11.5828-5829.2005.
16. Kabanda, T.; Siedner, M.J.; Klausner, J.D.; Muzoora, C.; Boulware, D.R. Point-of-care diagnosis and prognostication of cryptococcal meningitis with the cryptococcal antigen lateral flow assay on cerebrospinal fluid. *Clin Infect Dis* **2014**, *58*, 113-116, doi:10.1093/cid/cit641.
17. Trachtenberg, J.D.; Kambugu, A.D.; McKellar, M.; Semitala, F.; Mayanja-Kizza, H.; Samore, M.H.; Ronald, A.; Sande, M.A. The medical management

- of central nervous system infections in Uganda and the potential impact of an algorithm-based approach to improve outcomes. *Int J Infect Dis* **2007**, *11*, 524-530, doi:10.1016/j.ijid.2007.01.014.
18. Vidal, J.E.; Boulware, D.R. Lateral Flow Assay for Cryptococcal Antigen: An Important Advance to Improve the Continuum of Hiv Care and Reduce Cryptococcal Meningitis-Related Mortality. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* **2015**, *57 Suppl 19*, 38-45, doi:10.1590/S0036-46652015000700008.
  19. Perfect, J.R.; Bicanic, T. Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now. *Fungal Genet Biol* **2015**, *78*, 49-54, doi:10.1016/j.fgb.2014.10.003.
  20. Lofgren, S.; Abassi, M.; Rhein, J.; Boulware, D.R. Recent advances in AIDS-related cryptococcal meningitis treatment with an emphasis on resource limited settings. *Expert Rev Anti Infect Ther* **2017**, *15*, 331-340, doi:10.1080/14787210.2017.1285697.
  21. Vaidhya, S.A.; Gupta, B.B.; Jha, R.K.; Kumar, R. Combination Versus Monotherapy for the Treatment of HIV Associated Cryptococcal Meningitis. *J Clin Diagn Res* **2015**, *9*, OC14-16, doi:10.7860/JCDR/2015/12360.5601.
  22. Vidal, J.E.; de Albuquerque Moraes, C.; de Siqueira, R.E.B.; Miranda, N.F.B.; Marcusso, R.; Boulware, D.R.; de Oliveira, A.C.P. HIV-Associated Cryptococcal Meningitis Patients Treated with Amphotericin B Deoxycholate Plus Flucytosine under Routine Care Conditions in a Referral Center in Sao Paulo, Brazil. *Mycopathologia* **2021**, *186*, 93-102, doi:10.1007/s11046-020-00512-2.
  23. Organization, W.H. Rapid Advice: Diagnosis, Prevention and Management of Cryptococcal Disease in HIV-Infected Adults, Adolescents and Children. WHO Guidelines Approved by the Guidelines Review Committee; Geneva, 2011.
  24. Yao, Z.W.; Lu, X.; Shen, C.; Lin, D.F. Comparison of flucytosine and fluconazole combined with amphotericin B for the treatment of HIV-associated cryptococcal meningitis: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2014**, *33*, 1339-1344, doi:10.1007/s10096-014-2074-2.
  25. Meyer, W.; Castañeda, A.; Jackson, S.; Huynh, M.; Castañeda, E.; Group, I.C.S. Molecular typing of IberoAmerican *Cryptococcus neoformans* isolates. *Emerging infectious diseases* **2003**, *9*, 189.
  26. Hagen, F.; Khayhan, K.; Theelen, B.; Kolecka, A.; Polacheck, I.; Sionov, E.; Falk, R.; Parnmen, S.; Lumbsch, H.T.; Boekhout, T. Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. *Fungal Genetics and Biology* **2015**, *78*, 16-48.
  27. Hall, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In Proceedings of the Nucleic acids symposium series, 1999; pp. 95-98.
  28. Thompson, J.D. Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* **1994**, *22*, 4673-4680.
  29. Nguyen, L.-T.; Schmidt, H.A.; Von Haeseler, A.; Minh, B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular biology and evolution* **2015**, *32*, 268-274.

30. Guindon, S.; Dufayard, J.-F.; Lefort, V.; Anisimova, M.; Hordijk, W.; Gascuel, O. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology* **2010**, *59*, 307-321.
31. Minh, B.Q.; Nguyen, M.A.T.; von Haeseler, A. Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Molecular biology and evolution* **2013**, *30*, 1188-1195.
32. Vidal, J.E.; Penalva de Oliveira, A.C.; Dauar, R.F.; Boulware, D.R. Strategies to reduce mortality and morbidity due to AIDS-related cryptococcal meningitis in Latin America. *Braz J Infect Dis* **2013**, *17*, 353-362, doi:10.1016/j.bjid.2012.10.020.
33. Wu, X.; Shen, Y. Management of human immunodeficiency virus-associated cryptococcal meningitis: Current status and future directions. *Mycoses* **2019**, *62*, 874-882, doi:10.1111/myc.12977.
34. George, I.A.; Spec, A.; Powderly, W.G.; Santos, C.A.Q. Comparative Epidemiology and Outcomes of Human Immunodeficiency virus (HIV), Non-HIV Non-transplant, and Solid Organ Transplant Associated Cryptococcosis: A Population-Based Study. *Clin Infect Dis* **2018**, *66*, 608-611, doi:10.1093/cid/cix867.
35. Graybill, J.R.; Sobel, J.; Saag, M.; van Der Horst, C.; Powderly, W.; Cloud, G.; Riser, L.; Hamill, R.; Dismukes, W. Diagnosis and management of increased intracranial pressure in patients with AIDS and cryptococcal meningitis. The NIAID Mycoses Study Group and AIDS Cooperative Treatment Groups. *Clin Infect Dis* **2000**, *30*, 47-54, doi:10.1086/313603.
36. Rolfes, M.A.; Hullsiek, K.H.; Rhein, J.; Nabeta, H.W.; Taseera, K.; Schutz, C.; Musubire, A.; Rajasingham, R.; Williams, D.A.; Thienemann, F.; et al. The effect of therapeutic lumbar punctures on acute mortality from cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis* **2014**, *59*, 1607-1614, doi:10.1093/cid/ciu596.
37. Diaz, J.H. The Disease Ecology, Epidemiology, Clinical Manifestations, and Management of Emerging *Cryptococcus gattii* Complex Infections. *Wilderness Environ Med* **2020**, *31*, 101-109, doi:10.1016/j.wem.2019.10.004.
38. Boyer-Chammard, T.; Temfack, E.; Alanio, A.; Jarvis, J.N.; Harrison, T.S.; Lortholary, O. Recent advances in managing HIV-associated cryptococcal meningitis. *F1000Res* **2019**, *8*, doi:10.12688/f1000research.17673.1.
39. de Vedia, L.; Arechavala, A.; Calderon, M.I.; Maiolo, E.; Rodriguez, A.; Lista, N.; Di Virgilio, E.; Cisneros, J.C.; Prieto, R. Relevance of intracranial hypertension control in the management of *Cryptococcus neoformans* meningitis related to AIDS. *Infection* **2013**, *41*, 1073-1077, doi:10.1007/s15010-013-0538-4.
40. Meya, D.B.; Manabe, Y.C.; Boulware, D.R.; Janoff, E.N. The immunopathogenesis of cryptococcal immune reconstitution inflammatory syndrome: understanding a conundrum. *Curr Opin Infect Dis* **2016**, *29*, 10-22, doi:10.1097/QCO.0000000000000224.
41. Boulware, D.R.; Rolfes, M.A.; Rajasingham, R.; von Hohenberg, M.; Qin, Z.; Taseera, K.; Schutz, C.; Kwizera, R.; Butler, E.K.; Meintjes, G.; et al. Multisite validation of cryptococcal antigen lateral flow assay and quantification by laser thermal contrast. *Emerg Infect Dis* **2014**, *20*, 45-53, doi:10.3201/eid2001.130906.

42. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, P.e.C.d.I.S.T., do HIV/Aids e das Hepatites Virais. *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos*; 2018; p. 412.
43. Wake, R.M.; Govender, N.P.; Omar, T.; Nel, C.; Mazanderani, A.H.; Karat, A.S.; Ismail, N.A.; Tiemessen, C.T.; Jarvis, J.N.; Harrison, T.S. Cryptococcal-related Mortality Despite Fluconazole Preemptive Treatment in a Cryptococcal Antigen Screen-and-Treat Program. *Clin Infect Dis* **2020**, *70*, 1683-1690, doi:10.1093/cid/ciz485.
44. Meya, D.B.; Manabe, Y.C.; Castelnuovo, B.; Cook, B.A.; Elbireer, A.M.; Kambugu, A.; Kanya, M.R.; Bohjanen, P.R.; Boulware, D.R. Cost-effectiveness of serum cryptococcal antigen screening to prevent deaths among HIV-infected persons with a CD4+ cell count < or = 100 cells/microL who start HIV therapy in resource-limited settings. *Clin Infect Dis* **2010**, *51*, 448-455, doi:10.1086/655143.
45. Srichatrapimuk, S.; Sungkanuparph, S. Integrated therapy for HIV and cryptococcosis. *AIDS Res Ther* **2016**, *13*, 42, doi:10.1186/s12981-016-0126-7.
46. Rajasingham, R.; Meya, D.B.; Boulware, D.R. Integrating cryptococcal antigen screening and pre-emptive treatment into routine HIV care. *J Acquir Immune Defic Syndr* **2012**, *59*, e85-91, doi:10.1097/QAI.0b013e31824c837e.
47. Southern African Hiv Clinicians Society, T. Guideline for the prevention, diagnosis and management of cryptococcal meningitis among HIV-infected persons: 2013 update. *Southern African Journal of HIV Medicine* **2013**, *14*, doi:10.7196/sajhivmed.930.
48. Scheffer, M.; Biancarelli, A.; Cassenote, A. *Demografia médica no Brasil 2015*; Departamento de Medicina Preventiva da Faculdade de Medicina da USP; Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo; Conselho Federal de Medicina.: São Paulo, 2015; p. 284.
49. Meda, J.; Kalluvya, S.; Downs, J.A.; Chofle, A.A.; Seni, J.; Kidenya, B.; Fitzgerald, D.W.; Peck, R.N. Cryptococcal meningitis management in Tanzania with strict schedule of serial lumbar punctures using intravenous tubing sets: an operational research study. *J Acquir Immune Defic Syndr* **2014**, *66*, e31-36, doi:10.1097/QAI.0000000000000147.
50. Longley, N.; Muzoora, C.; Taseera, K.; Mwesigye, J.; Rwebembera, J.; Chakera, A.; Wall, E.; Andia, I.; Jaffar, S.; Harrison, T.S. Dose response effect of high-dose fluconazole for HIV-associated cryptococcal meningitis in southwestern Uganda. *Clin Infect Dis* **2008**, *47*, 1556-1561, doi:10.1086/593194.
51. Mourad, A.; Perfect, J.R. The war on cryptococcosis: A Review of the antifungal arsenal. *Mem Inst Oswaldo Cruz* **2018**, *113*, e170391, doi:10.1590/0074-02760170391.
52. Durkin, M.J.; Keller, M.; Butler, A.M.; Kwon, J.H.; Dubberke, E.R.; Miller, A.C.; Polgreen, P.M.; Olsen, M.A. An Assessment of Inappropriate Antibiotic Use and Guideline Adherence for Uncomplicated Urinary Tract Infections. *Open Forum Infect Dis* **2018**, *5*, ofy198, doi:10.1093/ofid/ofy198.
53. Anaissie, E.J.; Kontoyiannis, D.P.; Huls, C.; Vartivarian, S.E.; Karl, C.; Prince, R.A.; Bosso, J.; Bodey, G.P. Safety, plasma concentrations, and efficacy of

- high-dose fluconazole in invasive mold infections. *J Infect Dis* **1995**, *172*, 599-602, doi:10.1093/infdis/172.2.599.
54. Loyse, A.; Wilson, D.; Meintjes, G.; Jarvis, J.N.; Bicanic, T.; Bishop, L.; Rebe, K.; Williams, A.; Jaffar, S.; Bekker, L.G.; et al. Comparison of the early fungicidal activity of high-dose fluconazole, voriconazole, and flucytosine as second-line drugs given in combination with amphotericin B for the treatment of HIV-associated cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis* **2012**, *54*, 121-128, doi:10.1093/cid/cir745.
55. O'Connor, L.; Van Anh, D.; Chau, T.T.H.; Chau, N.V.V.; Huong, L.N.P.; Wolbers, M.; Day, J.N. Antifungal Susceptibility Does Not Correlate With Fungal Clearance or Survival in AIDS-Associated Cryptococcal Meningitis. *Clin Infect Dis* **2021**, *73*, e2338-e2341, doi:10.1093/cid/ciaa1544.
56. Ashley, E.D. Antifungal Drugs: Special Problems Treating Central Nervous System Infections. *J Fungi (Basel)* **2019**, *5*, doi:10.3390/jof5040097.
57. Falci, D.R.; Lunardi, L.W.; Ramos, C.G.; Bay, M.B.; Aquino, V.R.; Goldani, L.Z. Continuous infusion of amphotericin B deoxycholate in the treatment of cryptococcal meningoencephalitis: analysis of safety and fungicidal activity. *Clin Infect Dis* **2010**, *50*, e26-29, doi:10.1086/650489.