

REVISÃO DE LITERATURA

Aspectos Morfofuncionais e Laboratoriais de *Cryptococcus* sp. Evidenciados na Criptococose*Cryptococcus* sp. Morphofunctional and Laboratory Aspects Evidenced in Cryptococcosis

Ikaro Alves de Andrade¹, Igor Romeiro dos Santos¹, Danielly Batista Borges Camargo¹, Thays Teixeira Linhares¹, Rosângela Reis da Silva².

RESUMO

INTRODUÇÃO: A criptococose é uma patologia sistêmica decorrente da ação de leveduras do gênero *Cryptococcus* sp., em particular, as espécies *C. neoformans* e *C. gattii*. A doença acomete inicialmente os pulmões, todavia, os fungos apresentam forte tropismo para o tecido cerebral ocasionando a meningite criptocócica. Fatores como a atividade da cápsula proteica e as enzimas sintetizadas pelo fungo corroboram para a instauração da doença e, além disso, são parâmetros utilizados em testes laboratoriais para a detecção dos patógenos em amostras biológicas. **OBJETIVO:** Descrever os fatores comumente associados ao desenvolvimento da meningite criptocócica e os testes laboratoriais utilizados na detecção dos patógenos. **METODOLOGIA:** Este é um estudo exploratório, mediado por pesquisa bibliográfica, com trabalhos produzidos entre os anos 2000 e 2016, com ênfase na descrição dos aspectos funcionais, epidemiológicos e laboratoriais da doença. **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A criptococose é fortemente influenciada pela ação da cápsula proteica e enzimas como a fosfolipase e urease. O procedimento laboratorial mais utilizado é a pesquisa do fungo em ágar Sabouraud, visto que o meio canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB) pode ser executado em segundo plano. **CONCLUSÃO:** O estudo dos fatores que reforçam a patogenicidade da meningite fúngica pode auxiliar na elaboração de futuras medidas terapêuticas direcionadas para o controle das taxas de mortalidade humana.

Palavras-chave: *Cryptococcus neoformans*. Meningite. Meningite criptocócica.

 **ACESSO LIVRE**

Citação: Andrade IA, Santos IR, Camargo DBB, Linhares TT, Silva RR (2017) Aspectos Morfofuncionais e Laboratoriais de *Cryptococcus* sp. Evidenciados na Criptococose. Revista de Patologia do Tocantins, 4(4): 34-43.

Instituição: ¹Acadêmicos do curso de Biomedicina da Faculdade Anhanguera de Anápolis, Anápolis, Goiás, Brasil.

²Biomédica. Especialista em Citopatologia Ginecológica pela PUC-GO. Docente da Faculdade Anhanguera de Anápolis, Anápolis, Goiás, Brasil.

Autor correspondente: Ikaro Alves de Andrade; ikarodeandrade@gmail.com

Editor: Guedes V. R. Medicina, Universidade Federal do Tocantins, Brasil.

Publicado: 01 de dezembro de 2017.

Direitos Autorais: © 2017 Andrade et al. Este é um artigo de acesso aberto que permite o uso, a distribuição e a reprodução sem restrições em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Conflito de interesses: os autores declararam que não existem conflitos de interesses.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Cryptococcosis is a systemic disorder resulting from the *Cryptococcus* sp. action, in particular, the species *C. neoformans* and *C. gattii*. The disease initially affects the lungs, however, fungi have strong tropism for the brain tissue causing cryptococcal meningitis. Factors such as the activity of the protein capsule and enzymes synthesized by the fungus to confirm the establishment of the disease and, furthermore, are parameters used in laboratory tests for detecting pathogens in biological samples. **OBJECTIVE:** To describe the factors commonly associated with the development of cryptococcal meningitis and the laboratory tests used in the detection of pathogens. **METHODOLOGY:** This is an exploratory study, mediated by literature, with works produced between 2000 and 2016, with emphasis on the description of the functional, laboratory and epidemiological aspects of the disease. **RESULTS AND DISCUSSION:** Cryptococcosis is strongly influenced by the action of the protein capsule and enzymes like phospholipase and urease. The most common laboratory procedure is the fungus research in Sabouraud agar, since the middle bromothymol canavanine-glycine-blue (CGB) can be run in the background. **CONCLUSION:** The study of the factors that enhance the pathogenicity of fungal meningitis can assist in the development of future therapeutic measures aimed to control mortality rates.

Keywords: *Cryptococcus neoformans*. Meningitis. Cryptococcal meningitis.

INTRODUÇÃO

Os fungos são seres absorptivos e possuem sua organização celular e material genético delimitado por envoltório nuclear. O grupo apresenta uma variedade de espécies que podem viver de forma saprofítica, parasitas ou simbiotes. As espécies normalmente são encontradas na superfície da epiderme humana, entretanto, podem causar infecções (PEREIRA, BARROS, 2012).

A meningite é uma doença que se fundamenta na inflamação das meninges, desencadeada em sua maioria por processo infeccioso viral, bacteriano ou fúngico. As infecções causadas por fungos representam uma variação de seus ciclos naturais. Os processos infecciosos são promovidos por poucas espécies, entretanto, devido à epidemia da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) a doença cresce de forma exponencial, e para complementar o cenário epidemiológico, o atual parâmetro da doença fúngica não é totalmente descrito devido às deficiências na metodologia das pesquisas (ESCOSTEGUY et al., 2004; LEAL, 2006; ROGERIO et al., 2011; MORAES, VITAL, 2013; RATHORE, RAMAN, RAMAKRISHNAN, 2016).

A meningite criptocócica é causada, em sua maioria, pelas espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. Tais fungos são cosmopolitas e encontrados em diversos nichos ambientais. A caracterização desses agentes contribui para a melhor elaboração de futuras estratégias clínicas e no controle das taxas de morbidade e mortalidade, uma vez que, sem o conhecimento dos aspectos morfológicos e laboratoriais tais metas não poderão ser alcançadas. Objetivase com o presente estudo descrever os fatores comumente associados ao desenvolvimento da meningite criptocócica e os testes laboratoriais utilizados na detecção dos patógenos.

METODOLOGIA

O presente artigo configura-se como uma pesquisa bibliográfica. Sob a ótica de GIL (2008) foram utilizados três passos. O primeiro passo consiste na consulta de fontes de pesquisa que forneceram as respostas coerentes ao debate do tema estipulado.

Foram selecionados 30 artigos científicos, acessados nas bases de dados PUBMED; SicELO; Google Scholar (Google Acadêmico), publicados nos últimos 16 anos (2000 a 2016). Dentre eles, cinco (5) artigos foram excluídos por não contemplarem especificamente a meningite por *Cryptococcus* sp. Para a escolha das fontes, foram selecionadas como critério de integração as referências que abordavam a meningite fúngica desencadeada por *Cryptococcus* sp em pacientes imunocomprometidos e imunocompetentes; os trabalhos que estão no período de tempo delimitado, as obras que mencionam as características das espécies fúngicas e por último, os trabalhos que descrevem os procedimentos laboratoriais empregados no diagnóstico fúngico.

Em relação aos trabalhos, doze (12) são artigos em língua portuguesa e dezoito (18) em língua inglesa, disponíveis virtualmente em textos completos. Os descritores utilizados foram: criptococose; *Cryptococcus neoformans*; meningite; meningite criptocócica. Em inglês: cryptococcosis; *Cryptococcus neoformans*; meningitis, cryptococcal meningitis.

Consultaram-se duas (2) teses de doutorado disponíveis na biblioteca online da Universidade de São Paulo (USP) e Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); três (3) dissertações de mestrado disponíveis nas bibliotecas da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) e Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); e uma monografia retirada do acervo da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC).

No segundo passo, a coleta de dados ocorreu mediante a respectiva leitura exploratória de todo o acervo escolhido, a leitura seletiva daqueles que eram pertinentes ao tema e registro informativo dos textos extraídos das fontes. Por fim, no terceiro passo, a análise e interpretação dos resultados ocorreram baseadas na leitura e sumarização das informações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização morfológica e bioquímica

A criptococose, condição patológica desencadeada por fungos pertencentes à classe Blastomycetes, família Cryptococcaceae e gênero *Cryptococcus*, é a quarta maior doença oportunista em pacientes imunocomprometidos e é a principal responsável pela mortalidade e morbidade desses pacientes. A doença ganhou destaque após ser considerada uma micose letal em relação a estes pacientes (DROMER et al., 2004; LEAL, 2006; PEREIRA, BARROS, 2012; VIEIRA JÚNIOR, 2015; ALMEIDA, MACHADO, 2015).

O gênero *Cryptococcus* é formado por 34 espécies e apresentam-se como leveduras encapsuladas dispersas no ambiente. A Criptococose por sua vez, é causada quase que estritamente por *C. neoformans* e *C. gattii*. As literaturas descrevem que o *C. albidus*, *C. laurentii*, *C. terreus* e *C. uniguttulatus* são outras espécies de *Cryptococcus* que podem ser encontradas na microbiota da pele e em raros casos causam lesões (SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009; SCAIN, 2011; PEREIRA, BARROS, 2012; ARAUJO JUNIOR et al., 2015).

As espécies de *Cryptococcus* sp. estão dispostas nos tecidos do hospedeiro como leveduras encapsuladas (forma assexuada) com ou sem brotamento, mas podem ser encontradas no aspecto multibrotante, pobremente encapsuladas ou sem cápsula (FAGANELLO, 2008; SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009).

C. neoformans foi inicialmente descrito como patógeno em 1894 na Alemanha (FAGANELLO, 2008; SOARES, 2014). As infecções promovidas pelo fungo aumentaram ao longo dos últimos 20 anos, devido principalmente à epidemia da AIDS e ao uso de terapias imunossupressoras (MENEZES et al., 2002; PEREIRA, BARROS, 2012; MASCARENHAS-BATISTA, MASCARENHAS SOUZA, SACRAMENTO, 2013).

Cryptococcus neoformans é um basidiomiceto assexuado, globoso ou esférico, com a parede levemente rugosa que apresenta um diâmetro de cerca de 2-8 µm, com a espessura da cápsula mucopolissacarídica de <5µm até >30µm. A composição da cápsula constitui basicamente de glicuronoxilomanana (GXM), galactoxilomanana (GalXM) e manoproteína (MP). A GXM é formada por manose, xilose e ácido glicurônico; a GalXM por manose, xilose e galactose; enquanto a MP possui a manose como carboidrato predominante, e em baixas quantidades a galactose e a xilose (ZARAGOZA, FRIES, CASADEVALL, 2003; LEAL, 2006; SEVERO,

Tabela 1 – Registros bibliográficos sobre *Cryptococcus* sp. no período de 2000 a 2016

Autor	Ano	Espécie	Característica do Artigo	Fatores de Virulência	Aspecto Laboratorial
JACOBSON	2000	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> , <i>Cryptococcus gattii</i>	Descrição da melanina no processo de virulência das leveduras.	Produção de Melanina.	A produção da melanina auxilia na diferenciação de <i>Cândida</i> spp.
DARZÉ et al.	2000	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Descrição da faixa de acometimento da meningite fúngica.	-----	Utilização da Tinta da China como ferramenta nos casos de meningite criptocócica.
COX et al.	2000	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Descreve a produção da urease como forte fator de virulência do fungo.	Produção de Urease.	-----
NAKAMURA	2001	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Descrição dos sorotipos por intermédio de PCR.	-----	-----
MENEZES et al.	2002	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Descrição do fungo <i>C. neoformans</i> como cosmopolita e sua grande incidência em pacientes soropositivos.	-----	Utilização da microscopia direta em amostras de LCR (líquido cefalorraquidiano).
TUCKER, CASADEVAL	2002	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Explicação da resistência do fungo no interior de células apresentadoras de antígenos (macrófagos).	Caráter intracelular facultativo do patógeno.	-----
LORTHOLARY et al.	2002	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Relação entre os hormônios femininos no combate à infecções por <i>Cryptococcus neoformans</i> .	Produção de cápsula polissacarídica.	-----
PASSOS et al.	2002	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> , <i>Cryptococcus gattii</i>	Utilização de componentes da planta <i>Caryocar brasiliensis</i> como tratamento alternativo a meningite fúngica, com taxas consideráveis de sensibilidade.	-----	-----
ZARAGOZA, FRIES, CASADEVAL	2003	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>grubii</i>	Descrição da morfologia das leveduras e seu impacto no desenvolvimento da criptococose.	Produção de cápsula polissacarídica composta em sua maioria por GXM.	-----
NISHIKAWA et al.	2003	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>grubii</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> , <i>Cryptococcus gattii</i>	Explicação sobre a localização dos nichos regionais brasileiros dos patógenos.	-----	-----
HOANG et al.	2004	<i>Cryptococcus</i> spp.	Explicação sobre a localização dos nichos a nível mundial dos patógenos.	-----	Teste de aglutinação em látex.
ESPOSTO et al.	2004	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Determinação dos <i>mating types</i> de <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> através de multiplex PCR.	-----	-----
REOLON, PEREZ, MEZZARI	2004	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Caracterização de espécies de pombos na propagação de <i>Cryptococcus neoformans</i> .	Produção de manitol, cápsula polissacarídica, urease e melanina.	Teste em ágar CGB para diferenciação de <i>C. gattii</i> e <i>C. neoformans</i> .
DROMER et al.	2004	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> , <i>Cryptococcus gattii</i>	Descrição das taxas de susceptibilidade de desenvolver a doença, que são superiores em homens do que em mulheres.	-----	Cultura utilizando líquor, urina, sangue.
ESCOSTEGUY et al.	2004	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Descrição o desenvolvimento de meningite criptocócica atrelado à infecção pelo HIV.	-----	-----
SUGIURA, HOMMA, YAMAMOTO	2005	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Explicação da dificuldade em determinar o diagnóstico de meningite criptocócica quando a levedura apresenta deficiência capsular.	Produção de cápsula polissacarídica.	Teste de aglutinação em látex.
LOFTUS et al.	2005	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Elucidação das características básicas do <i>Cryptococcus neoformans</i> e elementos gênicos pertinentes.	-----	-----
LEAL	2006	<i>Cryptococcus</i> spp.	Descrição de outros possíveis fatores de risco para o desenvolvimento de criptococose como câncer, alcoolismo e tuberculose.	Produção de fosfolipases, urease e cápsula polissacarídica (GXM).	O diagnóstico da baseia-se na demonstração da levedura no material clínico; isolamento em cultura e a pesquisa de antígenos.
FAGANELLO	2008	<i>Cryptococcus</i> spp.	Descrição sobre os aspectos de neurotropismo das leveduras.	Desenvolvimento a temperatura de 37° C por conta da transcrição de produtos gênicos.	Amostras biológicas utilizadas: líquor, escarro, sangue e punção de medula óssea.
SEVERO, GAZZONI, SEVERO,	2009	<i>Cryptococcus</i> spp.	Estipulação dos subtipos moleculares dos agentes patológicos.	Produção de oxidases e de proteases e polissacarídeo capsular.	Identificação histológica através de H&E, GMS, Mucicarmim de Mayer

Continuação da Tabela 1

Autor	Ano	Espécie	Característica do Artigo	Fatores de Virulência	Aspecto Laboratorial
SOARES et al.	2011	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Descrição sobre a baixa quantidade de estudos envolvendo a meningite criptocócica em pacientes gestantes.	-----	Testes em líquor.
SCAIN	2011	<i>Cryptococcus</i> spp.	Caracterização da meningite criptocócica como evento que pode ser causada por outras espécies do gênero <i>Cryptococcus</i> , dentre elas: <i>Cryptococcus albidus</i> e <i>Cryptococcus laurentii</i> .	Síntese de melanina, urease, fosfolipases, oxidases e cápsula polissacarídica.	Microscopia direta utilizando Tinta da China.
PEREIRA, BARROS	2012	<i>Cryptococcus</i> spp.	Explicação sobre as formas de desenvolvimento sexual dos fungos.	Síntese de melanina, urease, fosfolipases, oxidases e cápsula polissacarídica.	Utilização do ágar CGB.
MORAES, VITAL	2013	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Descrição dos tipos de meningite baseado nos agentes bacterianos, fúngicos e virais, destacando-se a complexidade da meningite fúngica por <i>Cryptococcus neoformans</i> .	Produção de urease.	Cultura utilizando líquor, urina, sangue.
MASCARENHAS-BATISTA, MASCARE-NHAS SOUZA, SACRAMENTO	2013	<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Caracterização da correção da hipertensão intracraniana como fator crucial na redução da morbimortalidade dos pacientes com meningite criptocócica.	Presença da cápsula polissacarídica.	Ágar Sabouraud como meio de cultivo rotineiro.
SOARES	2014	<i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Cryptococcus gattii</i>	Diferenças fenotípicas entre as espécies de leveduras.	Produção da enzima urease, proteases, fosfolipases, melanina e cápsula polissacarídica.	Utilização do meio canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB).
ARAÚJO JUNIOR et al.	2015	<i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Cryptococcus gattii</i>	Caracterização do quantitativo de espécies e sorotipos do gênero <i>Cryptococcus</i> .	Produção da enzima urease.	Utilização do meio canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB) para diferenciar as espécies de <i>C. neoformans</i> e <i>C. gattii</i> .
ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL	2015	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Promoção de uma ampla descrição do rol de enzimas que atuam no processo de virulência do <i>Cryptococcus neoformans</i> .	Produção de oxidases, superóxido dismutase e urease.	-----
MENDONÇA FILHO	2015	<i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Cryptococcus gattii</i>	Descrição da região sudeste com maiores taxas de infecções por <i>C. neoformans</i> .	Presença de cápsula polissacarídica	Cultivo em ágar Sabouraud-dextrose.
ALMEIDA, MACHADO	2015	<i>Cryptococcus</i> spp.	Descrição da próstata como possível local considerado reservatório de levedura do <i>Cryptococcus</i> spp.	Produção da enzima urease.	Aplicação do ágar Sabouraud-dextrose (Sabouraud) na rotina clínica.
FALCI, PASQUALOTTO	2015	<i>Cryptococcus</i> spp.	Descrição sobre a utilização da anfotericina B no tratamento da meningite fúngica e seus efeitos adversos como nefrotoxicidade, reações agudas infusionais, anemia, neutropenia, plaquetopenia.	-----	-----
VIEIRA JÚNIOR	2015	<i>Cryptococcus</i> spp.	Descrição a importância de testes de biologia molecular no diagnóstico da criptococose.	Produção da melanina, proteases e cápsula.	Utilização do teste de aglutinação em látex e ELISA.
TENFORDE et al.	2016	<i>Cryptococcus</i> spp.	Explicação do cenário da criptococose em escala mundial.	-----	-----
ADAMS, GIBSON	2016	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Elucidação dos mecanismos da Sarcoidose na contribuição para o estabelecimento da meningite criptocócica.	-----	-----
RATHORE, RAMAN, RAMAKRISH-NAN	2016	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Descrição a influência de íons de magnésio e cálcio e pH na síntese da cápsula polissacarídica.	Produção de cápsula polissacarídica	-----
KUMARI et al.	2016	<i>C. gatti</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i>	Descrição da grande aplicabilidade na utilização de técnicas de PCR no diagnóstico de meningite criptocócica.	-----	Utilização do ágar CGB para diferenciar <i>C. gatti</i> de <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> .

GAZZONI, SEVERO, 2009; SCAIN, 2011; PEREIRA, BARROS, 2012; MORAES, VITAL, 2013).

A GXM é o polissacarídeo que forma 90% da cápsula, e algumas particularidades na estrutura referenciam o isolamento de *C. neoformans* em cinco sorotipos: A, B, C, D e AD. Os sorotipos pertencem a três variedades: *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (D e AD); *Cryptococcus gattii* (B e C); *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* (A) (NAKAMURA, 2001; ZARAGOZA, FRIES, CASADEVALL, 2003; FAGANELLO, 2008; SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009; SCAIN, 2011; PEREIRA, BARROS, 2012; VIEIRA JÚNIOR, 2015).

Cryptococcus gattii é um baciliforme de parede lisa e somente foi diferenciado do *C. neoformans* em 1970 por diferenças fenotípicas, epidemiológicas e clínicas. Referente às variações *grubii* e *neoformans* observa-se que a segunda é mais resistente a altas temperaturas e é mais evidente em lesões cutâneas (LEAL, 2006; PEREIRA, BARROS, 2012; MENDONÇA FILHO, 2015).

O sorotipo A (*C. neoformans* var. *grubii*) possui ampla distribuição geográfica, o D (*C. neoformans* var. *neoformans*) é característico de zonas temperadas, enquanto os sorotipos B e C (*C. neoformans* var. *gattii*) são encontrados em países de clima tropical, subtropical e temperado (SCAIN, 2011; PEREIRA, BARROS, 2012; ARAUJO JUNIOR et al., 2015).

Através de procedimentos de biologia molecular em estudos epidemiológicos, os subtipos moleculares pertencentes a *C. neoformans* (genótipos VNI, VNII, VNIII e VNIV) e a *C. gattii* (genótipos VGI, VGII, VGIII e VGIV) foram melhor evidenciados (SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009; ARAUJO JUNIOR et al., 2015).

Criptococose

A criptococose, também conhecida como blastomicose europeia ou tolurose, é uma infecção que se manifesta em pacientes imunocomprometidos como doença oportunista e em pacientes imunocompetentes como doença não oportunista (a primeiro momento). Os agentes causadores apresentam adaptação climática e normalmente *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *grubii* são relatados como oportunistas e *C. gattii* como patógeno primário (DARZÉ et al., 2000; FAGANELLO, 2008; PEREIRA, BARROS, 2012; ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015; ADAMS, GIBSON, 2016; ALMEIDA, MACHADO, 2015).

A criptococose, após o surgimento da AIDS nos anos 80, passou a ocupar o 4º lugar entre as infecções que acometem pacientes soropositivos. Normalmente a doença atinge homens e mulheres na faixa etária de 30 a 60 anos, com raros casos em crianças (DARZÉ et al., 2000; REOLON, PEREZ, MEZZARI, 2004; LORTHOLARY et al., 2002; LEAL, 2006; ALMEIDA, MACHADO, 2015).

A meningite fúngica causada por *Cryptococcus neoformans* é identificada especialmente em indivíduos portadores de alguma imunodeficiência e de neoplasias do sistema linfóide, porém a doença necessita de tratamento rápido e eficiente (ESCOSTEGUY et al., 2004; MORAES, VITAL, 2013).

A rota para o desencadeamento da meningite é iniciada pelos pulmões com a inalação de basidiósporos provenientes de fontes saprofíticas ambientais. O fungo

possui a capacidade de migrar para demais partes do organismo, em especial, para a região do sistema nervoso central (SNC) sobrepujando a barreira hematoencefálica onde também pode causar meningoencefalite e encefalite (LEAL, 2006; SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009; SCAIN, 2011; MENDONÇA FILHO, 2015; ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015; RATHORE, RAMAN, RAMAKRISHNAN, 2016).

Em pacientes portadores do vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV) é importante evidenciar que as lesões cutâneas por *C. neoformans* são marcadores de disseminação da doença. Estas se apresentam polimórficas podendo-se constituir de pápulas, placas infiltradas, pústulas, nódulos ou edemas (PEREIRA, BARROS, 2012).

A criptococose pulmonar pode ocorrer em consonância com outras doenças, como tuberculose e nocardiose e acarretar febre, tosse produtiva e perda de peso. Alguns pacientes portadores de colonização endobrônquica crônica apresentam isolados de *C. neoformans* e *C. gattii* no escarro durante meses e até anos, mesmo sem a evidência de imunossupressão ou culturas para fungo negativas na urina e no líquido cefalorraquidiano (LCR) (SCAIN, 2011; VIEIRA JUNIOR, 2015; MENDONÇA FILHO, 2015).

O SNC é a região mais suscetível para colonização pelo fungo devido aos nutrientes (tiamina, carboidratos e minerais) presentes no líquido, pela atividade irrisória do sistema complemento, baixa resposta inflamatória e presença de catecolaminas, utilizadas para a síntese de melanina (REOLON, PEREZ, MEZZARI, 2004; FAGANELLO, 2008).

Os pacientes com criptococose cerebral podem apresentar os sintomas meníngeos (náuseas, vômitos, cefaleia e rigidez de nuca), sinais de meningoencefalite (alteração do nível de consciência, déficit de memória), acometimento de pares cranianos (estrabismo, diplopia, déficit visual e paralisia facial), convulsões e irritabilidade (SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009; MASCARENHAS-BATISTA, MASCARENHAS SOUZA, SACRAMENTO, 2013; ALMEIDA, MACHADO, 2015).

Além do SNC, a infecção pode se disseminar por via hematogênica atingindo outras estruturas como olhos, ossos, pele, próstata, fígado, coração, adrenais, rins, linfonodos e articulações (SOARES et al., 2011; VIEIRA JUNIOR, 2015).

Algumas peculiaridades das infecções provocadas por *C. gattii* encontradas nos achados bibliográficos caracteriza-se pela capacidade de produzir a doença com presença de hidrocefalia e lesões cerebrais, resposta lenta aos antifúngicos e maiores chances de sequelas (LEAL, 2006; SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009; VIEIRA JUNIOR, 2015).

A criptococose, sob a ótica dos agentes *C. neoformans* e *C. gattii*, é uma doença que apresenta maior incidência em homens do que em mulheres (DROMER et al., 2004; LEAL, 2006). Lortholary et al. no ano de 2002, inicialmente, abordaram tal comparação e propuseram que os hormônios femininos tenham papel importante na defesa contra a criptococose, pautado em experimentos com camundongos, no qual as fêmeas infectadas com *Cryptococcus neoformans* produziram maiores níveis de ocitocinas plasmáticas do que os machos e apresentaram níveis maiores de TNF- α e IFN- γ no sangue e no baço.

Fatores de virulência

Os fatores de virulência são características que possibilitam o patógeno ultrapassar as defesas do hospedeiro e que apenas são manifestadas em indivíduos suscetíveis (LEAL, 2006). A elucidação da cápsula polissacarídica foi o primeiro fator conhecido de *C. neoformans* e *C. gattii* quando o paciente apresenta baixa resposta imune. As amostras acapsuladas já conseguem desencadear a doença, todavia, leveduras capsuladas disseminam-se melhor para a região cerebral (ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015).

O desenvolvimento da cápsula é influenciada pelo pH do meio e íons de magnésio e cloro. A estrutura protege a levedura da fagocitose por células do sistema imune, impede ligação de imunoglobulina G (IgG), bloqueia a fixação da proteína C3 e da via clássica do complemento, e restringe a proliferação das moléculas de adesão (ZARAGOZA, FRIES, CASADEVALL, 2003; VIEIRA JÚNIOR, 2015; RATHORE, RAMAN, RAMAKRISHNAN, 2016).

Tucker e Casadeval (2002) relatam que, aliado à resistência e a fagocitose, o patógeno pode possuir caráter intracelular facultativo, enquanto Faganello (2008) menciona o fator da temperatura. A levedura consegue se desenvolver a 37°C contribui para o desencadeamento patológico pelo fato de que certos genes apresentam maiores índices de transcrição à temperatura de 37°C, como aqueles envolvidos na manutenção da integridade da parede celular, na filamentação e no metabolismo oxidativo e de ácidos graxos.

Os fungos secretam uma série de enzimas de degradação e conseguem obter nutrientes no ambiente. *C. neoformans* e *C. gattii* não são exceções, pois liberam compostos como fosfolipases, proteases, ureases e DNases. No entanto, durante a infecção, as enzimas destroem os tecidos do indivíduo promovendo sobrevivência fúngica (ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015).

Fosfolipases foram descobertas como condicionantes de virulência em *Cryptococcus* sp. em 1997. Estas substâncias são necessárias para o desencadeamento da infecção pulmonar por *C. neoformans* e *C. gattii* e consequente disseminação do patógeno através das vias linfática ou sanguínea. Outras funções da enzima fundamentam-se na destruição da membrana celular e na potencialização da aderência da levedura ao epitélio pulmonar (LEAL, 2006; ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015).

As proteases realizam a quebra proteica e contribuem na invasão tecidual, na colonização e para alteração da resposta imune. As enzimas desempenham papéis críticos na penetração da célula hospedeira e virulência de *C. neoformans*. Recentemente, uma metaloprotease foi identificada por análises das proteínas extracelulares de *C. neoformans* e verificou-se que a enzima descoberta é necessária para a invasão do sistema nervoso central na infecção murina de *C. neoformans* (ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015).

A urease é uma metaloenzima que catalisa a hidrólise de ureia em amoníaco e carbamato e pode promover maior tempo de sobrevivência no hospedeiro. Sob condições fisiológicas, a reação de conversão pode resultar em um aumento do pH. A DNase extracelular é produzida por *C. neoformans* em quantidade significativa. A enzima pode degradar o DNA presente nos neutrófilos e contrapor a

resposta imune inata (COX et al., 2000; LEAL, 2006; ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015).

Além disso, observa-se que as melaninas são proteínas que também auxiliam no desempenho patológico das leveduras. Estas são moléculas hidrofóbicas produzidas pela difenoxidase por polimerização oxidativa de componentes fenólicos, com pigmentos na coloração preta ou marrom. As lacases são enzimas que realizam a oxidação de dihidroxifenóis em quinonas e potencializam sua polimerização em melanina, mas também protegem contra a morte mediada por macrófagos em *Cryptococcus* sp. A síntese de melanina por intermédio da lacase é um fator de grande destaque de virulência, visto que a síntese de melanina pode proteger o fungo contra a atividade de radicais livres (JACOBSON, 2000; LEAL, 2006; VIEIRA JÚNIOR, 2015; ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015).

A enzima superóxido dismutase (SOD), pouco debatida na literatura, converte superóxido para oxigênio e peróxido de hidrogênio. A presença da enzima facilita o crescimento do fungo no interior de macrófagos através de um mecanismo que provavelmente envolve a proteção do mesmo contra superóxido gerado pela resposta imune. A esse respeito, percebe-se que a melanina e a SOD estimulam mecanismos de defesa complementares para proteção de *C. neoformans* contra danos oxidativos. A síntese de SOD é mediada pela temperatura com aumentos de expressão a 37°C (ALMEIDA, WOLF, CASADEVALL, 2015).

A produção de manitol eleva a pressão intracraniana em pacientes com meningoencefalite ao provocar o aumento da pressão osmótica e de forma semelhante à melanina atua como um antioxidante corroborando como um fator de virulência. Outros fatores que aliados aos parâmetros de virulência contribuem para a alta recorrência de infecções promovidas por *C. neoformans* são o aumento da utilização de dispositivos médicos e a produção de biofilme (FAGANELLO, 2008; RATHORE, RAMAN, RAMAKRISHNAN, 2016).

Os dispositivos mais empregados no gerenciamento da hipertensão intracraniana associada à meningoencefalite criptocócica são as válvulas cerebrais, cateter ventricular peritoneal *shunt*, fistula de diálise, válvula cardíaca e prótese. Estas ferramentas destacam a importância de se investigar a capacidade do fungo produzir biofilme. O estudo sobre a formação de biofilme é recente, mas sabe-se que está relacionado com a resistência por parte da infecção perante a defesa do hospedeiro e a terapia antifúngica, além da atuação de íons de magnésio na cápsula polissacarídica (RATHORE, RAMAN, RAMAKRISHNAN, 2016).

Epidemiologia

C. neoformans epidemiologicamente é cosmopolita, podendo ser encontrado em diferentes regiões geográficas, onde a vida saprofítica do fungo relaciona-se a vários substratos orgânicos, dentre eles os contaminados com fezes de pombos. *C. gattii*, por sua vez, vem sendo isolado em regiões de clima tropical e subtropical e sua incidência no ambiente está relacionada com madeira em decomposição. Um dos reservatórios naturais de *C. gattii* são as flores de *Eucalyptus camaldulensis* (eucalipto) (REOLON, PEREZ,

MEZZARI, 2004; MENEZES et al., 2002; ZARAGOZA, FRIES, CASADEVALL, 2003; PEREIRA, BARROS, 2012).

A criptococose é a quarta causa mais corriqueira de doença oportunista em pacientes portadores do HIV. Em relação às infecções promovidas por fungos, recai sobre a criptococose o título de principal responsável pela morbidade e mortalidade destes pacientes (LEAL, 2006; SCAIN, 2011).

Dados coletados entre 1980 a 1999 demonstraram que no Brasil cerca de 4,5% das infecções oportunistas em pacientes para HIV eram causadas por *C. neoformans* ou *C. gattii*. No entanto, a criptococose não é uma doença de notificação compulsória, o que dificulta prever a atual veracidade das informações sobre os casos. No aspecto mundial, a variação *C. neoformans* var. *grubii* é responsável pela maior parte dos casos de infecção em indivíduos imunocomprometidos (LEAL, 2006).

Nishikawa et al. (2003) traçaram um perfil epidemiológico do agente no Brasil por intermédio de um estudo envolvendo 467 isolados clínicos e ambientais de *C. neoformans*. O sorotipo A representa a maioria dos casos clínicos (77,95%), seguidos do sorotipo B (18,2%), sorotipo AD (1,3%), sorotipo D (0,4%), sorotipo C (0,2%) e aqueles que não foram possíveis tipificar (1,93%). Mediante os achados, foi possível estipular que o sorotipo A prevalece nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste enquanto o sorotipo B predomina nas regiões Norte e Nordeste.

Os agentes etiológicos da criptococose exibem grande diversidade genética em que ambas as espécies e genótipos diferentes podem dividir o mesmo microambiente. Os padrões epidemiológicos hoje obtidos remontam que o genótipo VNI predomina em amostras isoladas das regiões Sul e Sudeste, principalmente associado ao HIV, e genótipo VGII prevalece nas regiões Norte e Nordeste (REOLON, PEREZ, MEZZARI, 2004; PEREIRA, BARROS, 2012; VIEIRA JÚNIOR, 2015).

Além disso, no Brasil existem dois padrões epidemiológicos característicos que podem ser observados. A criptococose primária, doença endêmica de regiões tropicais e subtropicais, acometendo indivíduos imunocompetentes, atribuída majoritariamente a *C. gattii*. A criptococose oportunista, doença cosmopolita associada a situações de imunodepressão (HIV/AIDS, uso prolongado de glicocorticoides, portadores de neoplasias, sarcoidose, doenças autoimunes) associada *C. neoformans* (VIEIRA JÚNIOR, 2015).

Nos pacientes com acesso a terapia antirretroviral (TARV), a incidência de meningoencefalite criptocócica diminuiu. Entretanto, a doença continua sendo uma das principais causas de mortalidade no mundo em desenvolvimento. No Brasil, apesar do uso da TARV, a criptococose é a segunda doença neurológica mais prevalente em pacientes com AIDS e em fase de diagnóstico da síndrome (PEREIRA, BARROS, 2012). Recentemente, o Centro de *Disease Control* (CDC), estima uma ocorrência de aproximadamente um milhão de novos casos de meningite criptocócica a cada ano resultando na morte de 625.000 pessoas em todo o mundo (RATHORE, RAMAN, RAMAKRISHNAN, 2016).

Soares et al. (2011) relatam a baixa quantidade de estudos relacionando à meningite criptocócica em pacientes gestantes, resultando na atual indefinição da melhor prática

terapêutica para estas pacientes. Apesar deste fato, prefere-se a administração de anfotericina B1, tendo em vista que, não existem dados associando o uso da droga a defeitos congênitos. Recomenda-se também o constante monitoramento das funções renais e hematológicas destas gestantes já que os efeitos adversos da anfotericina B1 incluem disfunção renal e anemia.

Aspectos laboratoriais

O diagnóstico da criptococose baseia-se na demonstração da levedura no material clínico e no isolamento em cultura, junto de provas bioquímicas para a identificação e a pesquisa de antígenos circulantes utilizados no início do processo infeccioso, quando os sintomas ainda são escassos. Dentre as principais técnicas para a pesquisa de antígeno, destaca-se o teste de partículas de látex (REOLON, PEREZ, MEZZARI, 2004; LEAL, 2006; PEREIRA, BARROS, 2012; VIEIRA JÚNIOR, 2015).

A pesquisa do fungo pode ser realizada em amostras de líquido, escarro, lavado brônquico, pus de lesões cutaneomucosas, urina, macerados de tecidos obtidos por biópsia, secreção prostática, sangue e punção de medula óssea. Diversas metodologias podem ser empregadas para a pesquisa de estruturas fúngicas características de *C. neoformans* e *C. gattii*. As preparações com tinta da China são utilizadas com materiais líquidos como líquido e escarro. Nestes casos, a levedura encontra-se como uma célula globosa ou em forma ovalada com uma cápsula polissacarídica (MENEZES et al., 2002; LEAL, 2006; SOARES et al., 2011; MORAES, VITAL, 2013; VIEIRA JÚNIOR, 2015).

Referente às técnicas histológicas (Tabela 2), a pesquisa de *Cryptococcus* sp. é feita com técnicas básicas Gomori-Grocott (GMS) e Hematoxilina-Eosina (H&E), além de específicas como Mucicarmim de Mayer (MM) e Fontana-Massom (FM, prata) (LEAL, 2006; SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009).

Tabela 2 – Utilidade e restrições dos procedimentos histopatológicos no diagnóstico de criptococose promovida por *Cryptococcus* spp. (Adapt. SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009).

Técnica	Restrições	Objetivo
H&E	Promove reação tecidual.	Não identifica as estruturas fúngicas.
GMS	Cora a parede celular fúngica.	Procedimento com certa complexidade e custo elevado.
FM	Cora o envelope capsular.	Insuficiente quando <i>Cryptococcus</i> spp. Apresentar deficiência de cápsula.
MM	Identifica e cora a melanina na parede celular do fungo.	Procedimento complexo e alto custo.

A coloração de GMS possui aplicação em pesquisas de traços fúngicos, seja em cortes teciduais quanto em esfregaços. A coloração pode evidenciar a parede celular, brotamentos e halos claros perinucleares ao redor do microrganismo. As lesões em atividade apresentam brotamentos únicos ou múltiplos com estreita base, e

ocasionalmente, podem ser detectadas pseudo-hifas (SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009).

A criptococose pode ser dividida em duas categorias histológicas, a reativa e paucireativa. Tal divisão é pautada nas reações teciduais do hospedeiro e revelada ao H&E. Para caracterizar o padrão como reativo, há resposta inflamatória granulomatosa composta por histiócitos e infiltração linfocitária. O padrão paucireativo, por sua vez, pode ser característico de mau prognóstico e caracteriza-se pela baixa resposta inflamatória. Há presença de numerosos microrganismos esféricos ou ovais circundados por halo claro (SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009).

A coloração de MM é específica para visualizar a estrutura mucopolissacarídica capsular de *Cryptococcus* spp., pois com a coloração magenta da cápsula é possível diferenciar a levedura de outros fungos semelhantes. A coloração de FM evidencia a melanina presente na parede celular do fungo. Essa tem a particularidade de ser utilizada quando há resultados insuficientes na técnica de Mucicarmim de Mayer que possam confirmar a presença de *Cryptococcus* spp. Assim, ela é uma alternativa para casos de infecções por organismos deficientes de estrutura capsular sugestivos de *Cryptococcus* spp. (SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009).

O exame microscópico direto do líquido com tinta da China é de rápida execução e leitura. Detém sensibilidade que varia de 50,0% a 80,0% dependendo da infecção ou não pela AIDS (VIEIRA JÚNIOR, 2015). Em relação à microscopia em pacientes imunocompetentes, a sensibilidade corresponde de 30-50% e para os portadores de HIV a sensibilidade é de até 80%. A visualização do fungo com aplicação da tinta da China (Figura 1) apresenta um halo claro ao redor da levedura (LEAL, 2006; LEAL, 2006; SEVERO, GAZZONI, SEVERO, 2009).

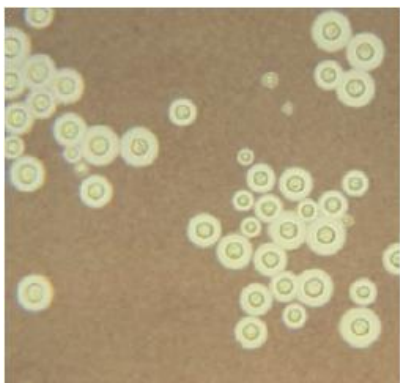


Figura 1. Exame laboratorial: cápsula com ausência de coloração pela tinta da China por intermédio de microscopia direta (Adapt. VIEIRA JÚNIOR, 2015).

O método de cultura corresponde ao padrão ouro dos métodos de diagnóstico laboratorial para *C. gatti* e *C. neoformans*, no entanto, apresentam certas limitações. O cultivo normalmente ocorre no meio Sabouraud (Figura 2) com a formação de colônias mucoides ou lisas de cor creme devido à simplicidade no desenvolvimento do fungo. As colônias de *C. gatti* carecem de 5 a 7 dias para se desenvolverem, e a sensibilidade do método corresponde a 75%. Em certos casos de meningite criptocócica crônica, ao analisar o líquido, pode-se obter um resultado negativo devido à baixa carga viável decorrente de possível tratamento prévio. *Cryptococcus* sp. normalmente abrange leveduras não

fermentadoras produtoras de urease e que assimilam inositol (LEAL, 2006; VIEIRA JÚNIOR, 2015).



Figura 2. Exame laboratorial: cultivo de *Cryptococcus* spp. No meio de Sabouraud (Adapt. VIEIRA JÚNIOR, 2015).

A produção de urease é uma prova bioquímica utilizada para identificação do gênero, pois as espécies de *Cryptococcus* sp. hidrolisam a ureia. Uma diferença notada é a inibição de urease pela presença de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) em *C. gattii*, mas não em *C. neoformans* (LEAL, 2006).

Outra característica é a produção de melanina realizada exclusivamente por *C. gatti* e *C. neoformans*, possuindo a coloração marrom em meios de cultura principalmente com extrato de batata e cenoura. A síntese é justificada pela presença de tirosina e ácido clorogênico que são oxidados pela fenoloxidase produzida pela levedura. No aspecto laboratorial, a utilização de meios de cultura que promovem a produção de melanina se faz necessário para diferenciar *C. gatti* e *C. neoformans* de *Cândida* spp. (JACOBSON 2000; LEAL, 2006).

O cultivo em ágar canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB) é um método comumente utilizado para identificar as espécies *C. neoformans* e *C. gattii* em laboratórios desde que foi proposto em 1982. Ao degradar a glicina, o fungo libera amônia alcalinizando o meio que passa de sua cor inicial amarelo-esverdeado para azul, caracterizando a reação positiva para *C. gattii*. Um fato inconveniente deste teste é a possibilidade de reações duvidosas, inviabilizando um diagnóstico seguro no caso de o laboratório contar apenas com este método de identificação. *C. gatti* apresenta certa resistência à canavanina e utiliza a glicina como fonte de carbono. Tal característica permite que o ágar CGB seja utilizado para diferenciar espécies de *C. gatti* e *C. neoformans*. A resistência à canavanina também é compartilhada por *C. grubii* sugerindo que o ágar CGB não é o bastante para diferenciar as espécies de *Cryptococcus* sp. (LEAL, 2006; SCAIN, 2011).

Ao longo da infecção fúngica, os polissacarídeos presentes na cápsula de *C. gatti* e *C. neoformans* dissolvem-se nos líquidos corporais e podem ser detectados e quantificados com anticorpos de coelho específicos anti-*Cryptococcus*, sendo que a técnica mais empregada para titulação e triagem é o teste de aglutinação em látex. Neste procedimento, os materiais biológicos comumente usados são soro, líquido ou urina. A aglutinação positiva no título de 1:4 sugere infecção por *C. gatti* e *C. neoformans*. Quando o título for maior ou igual a 1:8 sugere que a doença está em atividade. Vale ressaltar que pacientes portadores de AIDS apresentam títulos mais

altos. A técnica de aglutinação em látex pode apresentar sensibilidade de até 95% (LEAL, 2006).

O teste de aglutinação pode oferecer resultados duvidosos quando empregado em soro ou líquido. Alguns pontos que contribuem para tais resultados na forma de falsos-positivos são fatores reumatoides e reações cruzadas com a cápsula polissacarídica de outros microrganismos (por exemplo, *Histoplasma capsulatum*); enquanto os falsos-negativos são derivados pela formação de imunocomplexos, baixos níveis de antígenos e principalmente por infecções em pacientes portadores de HIV de linhagens pouco capsuladas ou sem cápsulas (LEAL, 2006).

CONCLUSÃO

Através deste estudo, constata-se que a maioria dos indivíduos com meningite criptocócica apresenta entre 30 e 60 anos e são do sexo masculino. Os sintomas mais frequentes são náuseas, vômitos, cefaleia, alteração do nível de consciência, convulsões e acometimento de pares cranianos.

A amostra biológica padronizada para a pesquisa das leveduras é o líquido, sendo que, o escarro e o lavado brônquico são materiais pouco utilizados para essa finalidade. Dentre as técnicas laboratoriais, notou-se a prevalência dos meios de cultura Sabouraud e CGB, contudo, em achados bibliográficos mais recentes, sugere-se a aplicação de procedimentos histopatológicos para complementação diagnóstica.

Dentre os fatores mais relacionados com a instauração da meningite criptocócica, conclui-se que a cápsula proteica é o aspecto morfofuncional mais relevante na instauração da doença, seguido da síntese de enzimas que neutralizam a ação do sistema imunológico do indivíduo.

Através deste estudo, pôde-se perceber que o controle das taxas de morbidade e mortalidade das complicações fúngicas podem ser adquiridos com estratégias clínicas que possibilitem primeiramente, a neutralização da cápsula do fungo. A capsula configura-se como um dos fatores mais críticos, que auxilia no desenvolvimento patogênico do fungo, visto que a estrutura bloqueia a ação do sistema complemento e humoral.

As enzimas que bloqueiam o sistema imunológico podem ser neutralizadas, de maneira subsequente à destruição da cápsula, pois com a neutralização capsular, os antifúngicos são mais eficientes e conseguem eliminar as estruturas fúngicas.

Conclui-se também que para que as estratégias clínicas sejam eficazes, necessita-se de testes laboratoriais rápidos e que possibilitem o resultado correto. Sugere-se que toda suspeita clínica seja inicialmente diagnosticada com o exame microscópico direto da amostra biológica e testes imunológicos, como a pesquisa de antígenos em exames de imuno-látex (análise em partículas de látex. Estes procedimentos são mais práticos e de rápida leitura. Posteriormente, com a identificação de *Cryptococcus* sp. pode-se adotar os procedimentos histopatológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, Traci N.; GIBSON, Maeghan. Cryptococcal meningitis in a patient with sarcoidosis. **Proceedings (Baylor University. Medical Center)**, v. 29, n. 2, p. 207, 2016.
- ALMEIDA, Fausto; WOLF, Julie M.; CASADEVALL, Arturo. Virulence-associated enzymes of *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryotic cell**, v. 14, n. 12, p. 1173-1185, 2015.
- ALMEIDA, Railane Letícia Gomes; MACHADO, Eleuza Rodrigues. *Cryptococcus spp.* em Pacientes com HIV/SIDA: Revisão da Literatura. **Ensaio e Ciência: C. Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 18, n. 1, 2015.
- ARAUJO JUNIOR, E.C. et al. *Cryptococcus*: isolamento ambiental e caracterização bioquímica. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 67, n. 4, p. 1003-1008, ago. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352015000401003&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 23 jun. 2016.
- COX, Gary M. et al. Urease as a virulence factor in experimental cryptococcosis. **Infection and immunity**, v. 68, n. 2, p. 443-448, 2000.
- DARZÉ, Calil et al. **Características clínicas laboratoriais de 104 casos de meningoencefalite criptocócica**. 2000. Disponível em: <<http://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/2679>>. Acesso em: 23 jun. 2016.
- DROMER, Françoise et al. Epidemiology of HIV-associated cryptococcosis in France (1985–2001): comparison of the pre-and post-HAART eras. **Aids**, v. 18, n. 3, p. 555-562, 2004.
- ESCOSTEGUY, Claudia Caminha et al. Vigilância epidemiológica e avaliação da assistência às meningites. **Revista de saúde Pública**, v. 38, n. 5, p. 657-663, 2004.
- ESPOSTO, M. C. et al. Determination of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* mating type by multiplex PCR. **Clinical microbiology and infection**, v. 10, n. 12, p. 1092-1094, 2004.
- FAGANELLO, Josiane. **Estudo da variabilidade e diferenças morfológicas entre as espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* por análise de diferença representacional e microscopia eletrônica de varredura**. 2008. 100 p. Tese de Doutorado (Doutor em Ciências) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/13643>>. Acesso em: 23 jun. 2016.
- FALCI, Diego Rodrigues; PASQUALOTTO, Alessandro Comaru. Anfotericina B: uma revisão sobre suas diferentes formulações, efeitos adversos e toxicidade. **Clinical & Biomedical Research**, v. 35, n. 2, 2015.
- GIL, Antônio C. **Métodos e Técnicas de Pesquisa Social**. 6ª ed. São Paulo: Atlas, 2008.
- HOANG, Linda MN et al. *Cryptococcus neoformans* infections at Vancouver Hospital and Health Sciences Centre (1997–2002): epidemiology, microbiology and histopathology. **Journal of medical microbiology**, v. 53, n. 9, p. 935-940, 2004.
- JACOBSON, Eric S. Pathogenic roles for fungal melanins. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 4, p. 708-717, 2000.
- KUMARI, Sunita et al. Comparison of Antigen Detection and Nested PCR in CSF Samples of HIV Positive and Negative Patients with Suspected Cryptococcal Meningitis in a Tertiary Care Hospital. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**, v. 10, n. 4, p. DC12-5, 2016.
- LEAL, Ana Lusía. **Diferenciação das espécies *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii* utilizando a metodologia de PCR multiplex e determinação do perfil epidemiológico de pacientes com meningite criptocócica**. 2006. 100 p. Dissertação de Mestrado (Mestre em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, PortoAlegre, 2006. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/7417>>. Acesso em: 23 jun. 2016.

18. LORTHOLARY, O. et al. Influence of gender and age on course of infection and cytokine responses in mice with disseminated *Cryptococcus neoformans* infection. **Clinical microbiology and infection**, v. 8, n. 1, p. 31-37, 2002.
19. LUCAREVTSCHI, Bianca Rezende et al. Custos hospitalares da meningite causada por *Streptococcus pneumoniae* na cidade de São José dos Campos, São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 28, n. 4, p. 740-748, 2012.
20. LOFTUS, Brendan J. et al. The genome of the basidiomycetous yeast and human pathogen *Cryptococcus neoformans*. **Science**, v. 307, n. 5713, p. 1321-1324, 2005.
21. MANTESE, Orlando C. et al. Perfil etiológico das meningites bacterianas em crianças. **J Pediatr (Rio J)**, v. 78, n. 6, p. 467-74, 2002.
22. MASCARENHAS-BATISTA, Ana Veronica; MASCARENHAS SOUZA, Nayra; SACRAMENTO, Edilson. Fatores prognósticos na meningite criptocócica em hospital de referência para doenças infecciosas. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 37, p. 68, 2013.
23. MENDONÇA FILHO, C. A. **Deteção de antígeno criptocócico no líquido cefalorraquidiano por "lateral flow assay" em casos suspeitos de meningite no Estado do Piauí**. 2015. 75f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Fundação Oswaldo Cruz, Teresina, PI, 2015.
24. MENEZES, Everardo Albuquerque et al. *Cryptococcus neoformans* causing meningitis in AIDS patients. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 35, n. 5, p. 537-539, out. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822002000500021&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 01 jul. 2016.
25. MORAES, Mônica França; VITAL, Liliana Patrícia. MENINGITE POR *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*—DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO. **Atas de Ciências da Saúde (ISSN 2448-3753)**, v. 1, n. 4, 2013.
26. NAKAMURA, Y. **Molecular analyses of the serotype of *Cryptococcus neoformans***. Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi. 2001; 42(2): 69-74.
27. NARDY, Stella MC; BRÓLIO, Roberto; BELLUOMINI, Marília. Aspectos epidemiológicos da meningite tuberculosa em menores de 15 anos de idade, na Grande São Paulo, Brasil, 1982-1983. **Revista de saúde pública**, v. 23, n. 2, p. 117-127, 1989.
28. NISHIKAWA, Marília M. et al. Serotyping of 467 *Cryptococcus neoformans* isolates from clinical and environmental sources in Brazil: analysis of host and regional patterns. **Journal of clinical microbiology**, v. 41, n. 1, p. 73-77, 2003.
29. PASSOS, Xisto Sena et al. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 35, n. 6, p. 623-627, dez. 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003786822002000600013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 27 jun. 2016.
30. PEREIRA, Tatiana Caroline Dias; BARROS, Rosângela Abreu Monteiro De. *Cryptococcus neoformans* E *Cryptococcus gattii*: PERSPECTIVAS SOBRE A ECO-EPIDEMIOLOGIA E NOVOS NICHOS ECOLÓGICOS. **FACIDER-Revista Científica**, v. 1, n. 1, 2012.
31. RATHORE, Sudarshan S.; RAMAN, Thiagarajan; RAMAKRISHNAN, Jayapradha. Magnesium Ion Acts as a Signal for Capsule Induction in *Cryptococcus neoformans*. **Frontiers in microbiology**, v. 7, 2016.
32. REOLON, Aline; PEREZ, Leandro Reus Rodrigues; MEZZARI, Adelina. Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 5, p. 293-298, Oct. 2004. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442004000500003&lng=en&nrm=iso>. Access on 03 July 2016.
33. ROGERIO, Luiz Pedro Willimann et al. Perfil epidemiológico das meningites no sul de Santa Catarina entre 1994 e 2009. **Deletar Ver Rev Bras Clin Med**, v. 9, n. 3, p. 200-3, 2011.
34. SCAINI, Gustavo. **PREVALÊNCIA DE *Cryptococcus neoformans* EM FEZES DE POMBOS (Columba livia) NAS PRAÇAS PÚBLICAS DA CIDADE DE LAGES, SANTA CATARINA**. Título 2011. 40 p. Monografia (Especialista em Análises Clínicas)- UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC, Lages. Santa Catarina, 2011. Disponível em: <<http://repositorio.unesc.net/handle/1/852>>. Acesso em: 27 jun. 2016.
35. SEVERO, Cecília Bittencourt; GAZZONI, Alexandra Flávia; SEVERO, Luiz Carlos. Capítulo 3: criptococose pulmonar. **J. bras. pneumol.**, São Paulo, v. 35, n. 11, p. 1136-1144, nov. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S180637132009001100012&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 27 jun. 2016.
36. SOARES, Leonardo Ribeiro et al. Meningite criptocócica na gravidez: revisão de aspectos terapêuticos. **Femina**, v. 39, n. 6, p. 325-328, 2011.
37. SOARES, Maria Cecília Pereira. **Perfis fenotípicos e diferenciação molecular de cepas ambientais e clínicas de *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii*: correlação dos achados laboratoriais e clínicos**. 2014. Tese (Doutorado em Dermatologia) - Faculdade de Medicina, University of São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5133/tde-20102014-111414/>>. Acesso em: 23/06/2016.
38. SUGIURA, Y.; HOMMA, M.; YAMAMOTO, T. Difficulty in diagnosing chronic meningitis caused by capsule-deficient *Cryptococcus neoformans*. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 76, n. 10, p. 1460-1461, 2005.
39. TENFORDE, Mark W. et al. HIV-Associated Cryptococcal Meningitis: Bridging the Gap Between Developed and Resource-Limited Settings. **Current clinical microbiology reports**, v. 3, n. 2, p. 92-102, 2016.
40. VASCONCELOS, Simone da Silva de; THULER, Luiz Claudio Santos; GIRIANELLI, Vania Reis. Incidência das Meningites no Estado do Rio de Janeiro no período de 2000 a 2006. **Rev. bras. neurol**, v. 47, n. 1, 2011.
41. VIEIRA JÚNIOR, José Noronha. **ESTUDO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO DA MENINGITE CRIPTOCÓCICA EM PACIENTES HIV NEGATIVOS EM UM CENTRO DE REFERENCIA NO PIAUÍ**. 2015. 95 p. Dissertação de Mestrado (Mestre em Medicina Tropical) - Instituto Oswaldo Cruz, Teresina. Piauí, 2015. Disponível em: <<http://157.86.8.70:8080/handle/iciict/49928>>. Acesso em: 27 jun. 2016.
42. ZARAGOZA, Oscar; FRIES, Bettina C.; CASADEVALL, Arturo. Induction of capsule growth in *Cryptococcus neoformans* by mammalian serum and CO₂. **Infection and immunity**, v. 71, n. 11, p. 6155-6164, 2003.