



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

---

2009/2010

Leonor Isabel Silva Pinto

A criptococose meníngea em doentes com infecção VIH

Abril, 2010

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA  
UNIVERSIDADE DO PORTO

Leonor Isabel Silva Pinto

## A criptococose meníngea em doentes com infecção VIH

**Mestrado Integrado em Medicina**

**Área: Infecçologia**

**Trabalho efectuado sob a Orientação de:**

**Dr. Carlos Lima Alves**

**Revista: Arquivos de Medicina**

**Abril, 2010**

# FMUP

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador, Dr. Carlos Lima Alves, por todo o tempo dispendido e apoio fundamental ao desenvolvimento desta monografia.

# A criptococose meníngea em doentes com infecção VIH

## Resumo

Ao longo da última década, as doenças fúngicas têm vindo a aumentar devido ao crescente número de indivíduos imunodeprimidos, designadamente nos países em vias de desenvolvimento. De facto, este fenómeno combinado com o surgimento de cirurgias mais agressivas, transplantação de órgãos e terapias imunossupressoras têm conduzido ao recrudescimento das infecções fúngicas. Portanto, torna-se de grande relevo compreender os mecanismos fisiopatológicos e características microbiológicas responsáveis pela virulência destes microorganismos fúngicos.

O *Cryptococcus neoformans* é um fungo ubiqüitário na natureza, infectando o Homem possivelmente pela inalação de pequenos esporos. O *Cryptococcus* pode colonizar o sistema respiratório hospedeiro sem originar doença, no entanto quando o sistema imunitário se encontra comprometido, a forma latente pode reactivar e disseminar-se por via hematogénea causando uma infecção sistémica. Desta forma, pode causar infecções envolvendo pele, olhos, miocárdio, ossos, articulações, pulmão, glândula prostática, sistema urinário e sistema nervoso central (SNC).

Esta revisão bibliográfica irá incidir na epidemiologia e abordagem da meningite criptocócica, com especial ênfase para mecanismos fisiopatológicos da infecção do SNC pelo *C. neoformans* em doentes com infecção VIH. Pensa-se que este neurotropismo possa ser explicado pelas propriedades singulares do cérebro e da barreira hematoencefálica (BHE), que tornam esta localização privilegiada ao escape imunológico e um santuário ideal à proliferação do *C. neoformans*. Será ainda abordada a terapêutica anti-fúngica bem como o síndrome de reconstituição imunológica (SRI) nos pacientes que iniciaram terapêutica anti-retroviral.

Palavras Chave: *C. neoformans*; VIH; meningite

## **Abstract**

Over the past decade, fungal diseases have been increasing due to rising numbers of immunocompromised individuals, particularly in developing countries. In fact, this phenomenon combined with the emergence of more aggressive surgeries, organ transplantation and immunosuppressive therapies have led to the resurgence of fungal infections. Therefore, it is of great importance to understand the mechanisms and microbiological physiopathologic characteristics responsible for the virulence of these fungal microorganisms.

The fungus *Cryptococcus neoformans* is ubiquitous in nature, possibly infecting humans by inhalation of tiny spores of this fungus. *Cryptococcus* may colonize the respiratory system hosts without causing disease, nevertheless when the immune system is compromised, the latent form can reactivate and spread via hematogenous causing a systemic infection. This way can cause infections that can affect the skin, eyes, myocardium, bones, joints, lungs, prostate gland, urinary system and central nervous system (CNS).

This review will focus on epidemiology and approach of cryptococcal meningitis, with special emphasis on the pathophysiological mechanisms of CNS infection by *C. neoformans*. It is thought that neurotropism may be explained by the unique properties of the brain and blood-brain barrier (BBB), which makes this location in the immune escape and an ideal sanctuary to the proliferation of *C. neoformans*. It will be also discussed anti-fungal therapy and the immune reconstitution syndrome (IRS) in patients who started antiretroviral therapy.

**Key words:** *C. neoformans*; HIV; meningitis

## Índice

Abreviaturas e siglas.....	1
Introdução.....	2
Epidemiologia.....	4
Métodos.....	6
Fisiopatologia.....	7
Disseminação da criptococose.....	8
Neurotropismo.....	8
Barreiras físicas à infecção do SNC.....	9
Mecanismo de entrada através da barreira hematoencefálica.....	10
Diagnóstico Clínico.....	11
Terapêutica Anti-fúngica.....	12
Síndrome de Reconstituição Imunológica.....	16
Perspectivas futuras.....	19
Bibliografia.....	20
Anexos.....	25

## **Abreviaturas e siglas**

***BHE*** - Barreira Hematoencefálica

***C. neoformans*** – *Cryptococcus neoformans*

**HAART** - Highly Active Antiretroviral Therapy

**LCR** - Líquido Cefalo-raquidiano

**SIDA** - Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**SRI** - Síndrome de Reconstituição Imunológica

**VIH** - Vírus da Imunodeficiência Humana

## Introdução

Ao longo da última década, as doenças fúngicas têm aumentado devido à expansão da população de indivíduos imunodeprimidos, especialmente nos países em vias de desenvolvimento.

A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana está a aumentar em várias áreas do globo, sendo as mais afectadas aquelas cujos recursos de saúde são mais precários, resultando em grandes populações de indivíduos imunodeprimidos. No final de 2008 estimavam-se 22.4 milhões de pessoas na África Subsariana infectadas com Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) e 1.4 milhões de pessoas faleceram com Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA) [1].

Este fenómeno, combinado com o surgimento de cirurgias mais agressivas, transplantação de órgãos e terapias imunossupressoras conduziram a um recrudescer das infecções fúngicas [2].

À medida que as doenças fúngicas se tornaram mais prevalentes, compreender as características microbiológicas responsáveis pela virulência torna-se de extrema importância.

O *Cryptococcus neoformans* apresenta-se sob a forma de três variantes tendo como base as suas diferenças genéticas e em quatro serotipos predominantes devido a diferenças na estrutura polissacarídica da cápsula que possuem. Embora todas estas variantes possam ser patogénicas para o Homem, elas apresentam diferentes epidemiologias. Assim sendo, *C. neoformans var. grubii* (serotipo A) é a causa 95% das infecções criptocócicas e 99% das infecções nos doentes VIH nos Estados Unidos da América (EUA) [3]. O *C. neoformans var. neoformans* (serotipo D) apresenta-se associado uma prevalência superior em algumas regiões da Europa, nomeadamente França, Dinamarca e Itália correspondendo a 20% das infecções criptocócicas. Contrariamente às duas espécies anteriores que apresentam uma predilecção por indivíduos imunodeprimidos, *C. gattii* (serotipo B e C) pode afectar indivíduos imunocompetentes [4].

*C. neoformans* é um importante patógeno humano e provou também ser um espantoso modelo para estudo da virulência dos fungos. Este é predominantemente haplóide, o que facilita a análise genética, apresentando um ciclo sexual definido.

Recentemente surgiram informações que permitiram não só um melhor entendimento acerca da patofisiologia da criptococose meníngea como também novas perspectivas terapêuticas.

Esta revisão tem por objectivo o esclarecimento da epidemiologia, patofisiologia, manifestações clínicas e tratamento da infecção pelo *Cryptococcus neoformans*, dando especial relevância à criptococose meníngea.

## **Epidemiologia**

O número de pessoas que vivem com infecção VIH a nível mundial tem continuado a aumentar atingindo em 2008, cerca de 33.4 milhões de indivíduos. O número total de pessoas que vivem com o vírus em 2008 foi 20% superior ao de 2000 [5].

O número crescente de casos de infecção VIH reflecte a elevada incidência de infecção pelo vírus, mas também o efeito benéfico das novas terapêuticas anti-retrovirais que permitem o prolongamento da vida destes doentes [5].

Estima-se que, em todo mundo, aproximadamente 2 milhões de pessoas morram por doenças relacionadas com SIDA, anualmente [5].

A criptococose meníngea é a infecção fúngica mais comum no sistema nervoso central e a terceira principal complicação neurológica dos doentes com infecção VIH [6].

À medida que a epidemia do VIH se foi espalhando nos anos 80, *C. neoformans* emergiu como uma importante infecção oportunista nos EUA, Europa e Austrália, ocorrendo em 5 a 10% dos doentes com SIDA. As taxas de infecção baixaram ao longo dos anos 90 primeiramente pela introdução dos azóis e seguidamente pela introdução da *Highly Active Antiretroviral Therapy* (HAART) [7, 8, 9].

A criptococose meníngea associada ao VIH é actualmente um problema nos países em vias de desenvolvimento cujos indivíduos se apresentam muitas vezes no último estadio da infecção pelo VIH devido ao limitado acesso aos recursos de saúde. Contudo, mantém-se também como uma das principais doenças oportunistas nos países desenvolvidos em que existe uma elevada incidência de infecção VIH [10].

Nos EUA a meningite criptocócica ocorre em 6 a 10% dos doentes com SIDA, sendo em 40% a doença definidora de SIDA [6].

Na África Subsariana, onde a HAART é menos comuns, *C. neoformans* é o responsável por 45% de todos os casos de meningite em adultos, correspondendo a 26,5% dos casos no Malawi e 45% no Zimbabwe [10].

Na Tailândia a criptococose meníngea é em 20% dos indivíduos a doença definidora de SIDA e é a doença oportunista mais comum na Índia e no Brasil [10].

Actualmente, mesmo quando é administrado o melhor tratamento anti-fúngico a mortalidade em doentes VIH com criptococose meníngea é de 10 a 25% nos países desenvolvidos.

## **Métodos**

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados da Pubmed, EMBASE e Cochrane Collaboration relativa a artigos publicados de 1989/01/01 a 2010/02/01 utilizando como palavras-chave: *Cryptococcus neoformans*, *pathogenicity*, *physiology*, *diagnosis* e *therapeutics*.

Desta pesquisa resultaram 79 artigos, dos quais 24 foram excluídos por leitura do título e resumo. Dos restantes 55 artigos procedi à leitura integral de 45 pelo facto de não ter conseguido 10.

A selecção final incluiu um conjunto de 31 artigos.

Devido à relevância de alguns artigos que estavam referenciados nos artigos obtidos na pesquisa, optei por inclui-los na elaboração desta revisão.

## **Fisiopatologia**

O *Cryptococcus neoformans* foi descrito pela primeira vez, há mais de um século, na Alemanha na lesão tibial de um paciente.

A forma clínica mais comum de apresentação de infecção pelo *C. neoformans* é a meningoencefalite, contudo a infecção inicial é adquirida através da inalação dos esporos do fungo provenientes do ambiente.

A criptococose ocorre quer em animais quer em humanos, embora transmissão animal-Homem ou Homem-animal nunca tenha sido documentada. As fontes de transmissão mais comuns na natureza encontram-se nos solos contaminados com dejectos dos pombos (*C. neoformans* var. *neoformans* e var. *grubii*) e nas árvores de Eucalipto e madeira apodrecida (*C. gattii*).

O *Cryptococcus* pode colonizar o sistema respiratório hospedeiro sem originar doença, contudo quando a infecção ocorre, esta é tipicamente assintomática, podendo vir a ser eliminada ou transformar-se numa forma latente. Quando o sistema imunitário se encontra comprometido, a forma latente pode reactivar e disseminar-se por via hematogénea causando uma infecção sistémica. *Cryptococcus* pode infectar e espalhar-se a qualquer órgão causando infecções localizadas que podem envolver pele, olhos, miocárdio, ossos, articulações, pulmão, glândula prostática, sistema urinário. É ainda de salientar a grande propensão para disseminação ao sistema nervoso central (SNC).

Acredita-se actualmente que a infecção resultante de reactivação ocorra com maior frequência do que a decorrente de uma infecção aguda pelo fungo, assim como infecção criptocócica recorrente decorre mais frequentemente de recidiva do que de re-infecção.

Estes dados foram corroborados por um estudo realizado em pacientes em França que adquiriram o fungo originalmente em África, onde viveram aproximadamente 10 anos previamente a terem mudado para a Europa. Todas estirpes isoladas destes pacientes apresentavam padrões diferentes das usualmente isoladas na Europa, América e Ásia.

Contudo, infecção aguda pode também ocorrer em indivíduos imunodeprimidos que foram expostos a grandes quantidades de esporos de *C. neoformans*.

Sendo este fungo ubiqüitário na natureza seria de esperar que os indivíduos apresentassem infecção por múltiplas estirpes. Contudo existem evidências de que mais comumente apenas uma estirpe coloniza e infecta um hospedeiro [ 11].

Por vezes o mesmo meio ambiente pode conter mais do que uma estirpe, tornando-se plausível que a infecção inicial resulte da colonização por várias estirpes, embora a estirpe mais virulenta e viável possa predominar e ser a responsável pela infecção nos indivíduos cujo sistema imunitário está comprometido [12], levando a que se conclua erradamente que apenas uma estirpe esteve implicada na colonização [2].

### ***Disseminação da criptococose***

A via natural de infecção pelo *Cryptococcus neoformans* é através do sistema respiratório, mas a disseminação deste fungo ocorre para variados órgãos tal como já referido acima.

Em geral, diferentes estirpes de *C. neoformans* provocam diferentes manifestações de criptococose. A estirpe *C. neoformans* var. *neoformans* apresenta um dermatotropismo superior ao da var. *grubii*, o provavelmente poderá ser explicado pelo facto de a var. *neoformans* apresentar uma elevada sensibilidade ao calor [13].

Embora o pulmão seja o local inicial de infecção, o diagnóstico de criptococose é normalmente feito apenas quando já existem manifestações neurológicas resultantes da disseminação do fungo para o SNC. Nos indivíduos imunodeprimidos estes fungos por vezes surgem associados a criptococomas, os quais se podem tornar muito grandes no parênquima cerebral durante a meningoencefalite criptocócica [14].

### ***Neurotropismo***

Actualmente sabemos existir uma predilecção do fungo pelo SNC, embora ainda seja um tema sobre o qual se especula bastante sem existir uma explicação unanimemente aceite.

São colocadas três possíveis hipóteses explicativas que poderiam fundamentar o neurotropismo do *C. neoformans* pelo SNC.

Em primeiro lugar, pensa-se que o SNC seja rico em substratos específicos, favoráveis ao crescimento e proliferação do fungo. Em segundo lugar o SNC pode permitir um local de escape à vigilância imunológica do hospedeiro. Em terceiro lugar, receptores específicos nas

células neuronais podem atrair *Cryptococcus* mais avidamente que os existentes nos restantes órgãos.

Neurotransmissores como a dopamina, noradrenalina e adrenalina podem ser usados pelo *C. neoformans* para a síntese da melanina, a qual é um polímero pigmentado que protege as células do fungo do stress oxidativo, fagocitose e fármacos antifúngicos e ainda leva a alteração das respostas imunológicas do hospedeiro. As catecolaminas no cérebro podem promover lesão oxidativa e foi sugerido que a conversão em melanina por acção da lacase poderia remover esta fonte de toxicidade para as células do fungo [15]. Os produtos da oxidação do substrato pela lacase, incluem variados intermediários tóxicos para as células do hospedeiro [15]. Embora a glândula suprarrenal seja rica em neurotransmissores que podem servir de substrato a melanogénese, não é observado predilecção por este tecido. Além disso as células fúngicas podem sintetizar melanina nos pulmões, local onde a infecção inicial ocorre. Assim sendo, é então pouco provável que a predilecção deste fungo pelo SNC se deva unicamente à existência de substratos favoráveis à síntese de melanina.

O neurotropismo é em parte explicado devido às propriedades singulares do cérebro e barreira hematoencefálica (BHE) tornando esta localização privilegiada ao escape imunológico, comparativamente com restantes órgãos. *C. neoformans* atravessa a barreira hematoencefálica e entra no SNC e, como não está sob uma resposta imunológica tão vigorosa, vai proliferando e crescendo [16].

### ***Barreiras físicas à infecção do SNC***

Perante circunstâncias normais a entrada nas células do SNC, de microrganismos patogénicos e até partículas de pequenas dimensões é restringida pela existência de barreira hematoencefálica. A barreira hematoencefálica protege assim, a entrada dos constituintes do sangue no parênquima cerebral e no líquido cefalorraquidiano (LCR) e dependendo do local do SNC esta pode ser constituída por células endoteliais ou epiteliais. A barreira entre a corrente sanguínea e o parênquima cerebral é constituído por microvasos de células endoteliais com *tight junctions*, as quais são em parte dependentes dos pericitos, da membrana basal e dos limitantes gliais perivasculares (astrócitos e células microgliais). Os astrócitos em particular parecem ter um papel muito importante na manutenção da integridade da barreira devido ao íntimo contacto que estabelecem com as células endoteliais dos vasos sanguíneos e à produção de factores solúveis que levam à estimulação das células endoteliais para a

formação de *tight junctions*. Os microorganismos patogénicos que conseguem chegar ao SNC atravessando a barreira hematoencefálica seriam inicialmente encontrados nos espaços perivasculares do parênquima neuronal com subsequente disseminação ao parênquima e espaços meníngeos.

A segunda área que restringe o acesso ao SNC é o interface entre corrente sanguínea e líquido cefalo-raquidiano (LCR) ao nível do plexo coroideu. A entrada de agentes patogénicos no plexo coroideu significaria o acesso e invasão dos ventrículos e rápida disseminação ao LCR. O LCR é normalmente estéril e não possui componentes do sistema imunitário nomeadamente leucócitos e elementos do sistema complemento, tornando-o por isso um atractivo santuário para os microorganismos. Por outro lado o LCR é também pobre em nutrientes e substratos necessários ao crescimento de alguns agentes patogénicos invasores, impedindo desta forma a disseminação através dele.

### ***Mecanismo de entrada através da barreira hematoencefálica***

Historicamente, sempre se pensou que o processo de infecção teria início nas meninges e posteriormente progredia para o parênquima cerebral via espaços de Virchow que se conectam ao espaço subaracnoideu, contudo também vem sendo postulado que uma vez na corrente sanguínea o *C. neoformans* atravessa a barreira hematoencefálica iniciando a infecção ao nível do parênquima cerebral [17].

Estão propostas três vias principais através das quais se acredita que este microorganismo patogénico entre no SNC.

Um dos mecanismos propostos envolve a migração transcelular através das células endoteliais dos microvasos da BHE ou através das células epiteliais do plexo coroideu. Neste caso, o agente patogénico pode facilitar a sua própria absorção pela codificação de moléculas de superfície que ajudam na ligação aos receptores no endotélio ou epitélio [17].

O *C. neoformans* pode também migrar entre as células endoteliais e as células epiteliais da BHE através da interrupção da formação de *tight junctions* [17].

Por fim, pode migrar através da BHE no interior de leucócitos, tais como monócitos e possivelmente linfócitos T, usando um mecanismo denominado "Cavalo de Tróia" [17].

## **Diagnóstico Clínico**

O reconhecimento de criptococose meníngea em doente VIH positivo requer um elevado grau de suspeição.

A maior parte dos casos de criptococose é diagnosticada como uma meningoencefalite de carácter insidioso. Os pacientes apresentam-se tipicamente com febre e/ou cefaleia de início lento e gradual, que se vai tornando cada vez mais debilitante à medida que o tempo passa [18]. A exclusão de meningoencefalite em pacientes com convulsões, comportamentos bizarros, confusão, demência progressiva ou febre de causa inexplicável revela-se também de grande importância [18]. Esta inespecificidade das manifestações clínicas acarreta muitas vezes um atraso no diagnóstico contribuindo para a gravidade da doença.

Os sinais clínicos de irritação meníngea normalmente encontram-se ausentes à realização do exame físico, e os exames laboratoriais por vezes podem ser inconclusivos quanto à existência de infecção pelo *C. neoformans* [19, 20].

O diagnóstico é essencialmente clínico e laboratorial, sendo fundamental o estudo do LCR. Este pode evidenciar pleocitose (polimorfonucleares e células mononucleadas), proteinorraquia ligeiramente aumentada e hipoglicorraquia. Nos doentes com SIDA o LCR apresenta um baixo conteúdo celular, o qual é um indicador de mau prognóstico. A identificação do *C. neoformans* através do uso de tinta-da-china, torna visíveis as formas encapsuladas e em gemulação, contudo é um exame pouco sensível. A cultura de *C. neoformans* é frequentemente demorada. O teste de aglutinação de partículas de látex detecta antígenos no soro ou no LCR dos doentes infectados em 99% [19, 20].

## Terapêutica Anti-fúngica

A criptococose meníngea é uma doença potencialmente fatal se não instituída a terapêutica adequada. Há aproximadamente 50 anos atrás, a introdução da anfotericina B no tratamento das micoses sistêmicas, nomeadamente da criptococose meníngea, veio alterar por completo o curso destas doenças, tornando-as curáveis.

A anfotericina B à semelhança de quase todos os antifúngicos, actua ligando-se e alterando especificamente os esteróis da membrana das células do fungo (ergosterol), através da modificação da sua permeabilidade, o que resulta na perda de potássio e pequenas moléculas. Embora a anfotericina B possua maior afinidade pelo ergosterol, muitos dos efeitos tóxicos que lhe são atribuídos são resultado da sua capacidade em ligar-se ao colesterol e outros constituintes da membrana das células humanas. As reacções adversas agudas tais como febre, calafrios, tremores, náusea, vómitos e dor de cabeça ocorrem frequentemente estando sobretudo relacionadas à infusão [21]. As alterações cardiovasculares como hipotensão, hipertensão e arritmia cardíaca foram observados com menor frequência [22]. A hipocalcemia, hipernatremia, diurese aumentada, hipomagnesemia, disfunção renal e efeitos tóxicos sobre a medula óssea (anemia, leucopenia e trombocitopenia) foram observados na decorrência de administrações repetidas [21].

O uso de doses elevadas de desoxicolato de anfotericina B mais efetivas do que as convencionais (acima de 1,0 mg/kg/dia), torna-se limitado pelos efeitos tóxicos [23]. Como tal, muitos trabalhos ao longo dos anos foram direccionados para desenvolvimento de preparações lipídicas como veículo para fármacos, como lipossomas, complexos lipídicos e emulsões.

Assim sendo, actualmente estão disponíveis três tipos de formulações da anfotericina, o desoxicolato de anfotericina B, anfotericina B de dispersão coloidal e anfotericina B de dispersão lipossomal.

Se ocorrer insuficiência renal, a anfotericina B de dispersão lipossomal na dose de 3mg/Kg/dia, é uma alternativa que proporciona menor toxicidade renal e igual eficácia fungicida [10]. A dose óptima das formulações lipídicas de anfotericina B ainda não está completamente determinada, mas tem sido eficaz nas doses de 4mg/Kg/dia [23].

A flucitosina é um antagonista pirimidínico com actividade anti-fúngica contra o *Cryptococcus neoformans*. A flucitosina foi introduzida inicialmente para o tratamento de criptococose meníngea, apresentando uma excelente penetração para o LCR. Contudo devido ao elevado número células leveduriformes *C. neoformans* encontradas aquando de uma meningite criptocócica, mecanismos de resistência à terapêutica eram comuns, sendo observadas elevadas taxas de mutações na via das pirimidinas quando utilizada isoladamente.

A administração de flucitosina na dose de 100mg/Kg diária é bem tolerada não existindo necessidade de monitorização dos níveis de fármaco no organismo [24]. Alguns estudos, comparam a biodisponibilidade do fármaco aquando de uma administração oral versus intravenosa e, nos indivíduos que se encontravam num estágio já avançado de SIDA, concluíram que a biodisponibilidade oral da flucitosina rondava os 50%, resultando numa baixa concentração sérica deste fármaco, não se associando a toxicidade. Contudo, apesar dos baixos níveis séricos apresentados pelos doentes alvo de administração oral, foi observado que estes apresentavam igual *clearance* de infecção quando comparados com os que realizaram administração intravenosa [10].

A combinação de flucitosina e anfotericina B tornou-se vantajosa quer pela farmacocinética quer pelos efeitos sinérgicos que estes dois fármacos apresentaram quando em associação.

Entre os pacientes VIH positivos com criptococose meníngea que são tratados com sucesso com anfotericina B em associação com flucitosina, à semelhança do que acontece nos outros esquemas terapêuticos, existe um elevado risco de recaída, na ausência de terapêutica de manutenção. Este facto foi demonstrado num estudo caso-controlo randomizado e com dupla-ocultação, que tinha como objectivo avaliar a eficácia do fluconazol na prevenção das recaídas, após tratamento bem sucedido com anfotericina B em combinação com flucitosina em doentes com infecção VIH [25]. Apenas 3% dos pacientes em que foi administrado fluconazol tiveram recaída em comparação com a administração de placebo que teve um total de recaídas de 37% [25].

O fluconazol apresenta um mecanismo de acção que se assemelha ao da anfotericina B, interagindo especificamente com o ergosterol das membranas do fungo resultando na formação de poros através de membranas lipídicas.

Contudo, os resultados obtidos com fluconazol em monoterapia na dose de 200-400mg/dia são insatisfatórios quando usado como tratamento de primeira linha, mostrando grande inferioridade quando comparados com anfotericina B em associação com flucitosina [24]. Quando comparada a acção fluconazol com a anfotericina B isoladamente, não existiram resultados significativamente diferentes, contudo a obtenção de um LCR estéril necessita de uma média de 64 dias quando utilizado apenas fluconazol e uma média de 42 dias quando usada anfotericina B [20].

As guidelines actuais de tratamento de doentes VIH positivos são baseadas na sua grande maioria em resultados de um grande estudo randomizado realizado há aproximadamente 13 anos atrás [19].

A terapia inicial inclui anfotericina B (0.7mg/Kg/dia) com ou sem flucitosina (100mg/Kg/dia) durante 2 semanas, seguida de uma fase de consolidação de 8 semanas com fluconazol (400mg/dia) ou itraconazol (400mg/dia). O objectivo era ganhar controlo mais rápido da infecção numa fase inicial com anfotericina B e seguidamente mudar para os azóis que são fármacos muito melhor tolerados para consolidação do tratamento, minimizando desta forma a toxicidade da anfotericina B. A mortalidade foi a mais baixa de sempre obtida em qualquer outro estudo publicado, sendo de 9.4% ao fim de 10 semanas [19]. A adição de flucitosina foi associada a uma maior percentagem de doentes com LCR estéril às 2 semanas e diminuição das recaídas [19]. Depois das 10 semanas de terapêutica antifúngica, as doses de fluconazol podem ser diminuídas para 200 mg dependendo do estado clínico de cada paciente [18].

Fluconazol mostrou-se superior ao itraconazole no tratamento de consolidação [19]. A associação à anfotericina B de fluconazol numa dosagem de 400mg diários mostrou também um *clearance* criptocócico mais rápido no LCR [24].

A associação tripla demonstrou ter igual eficácia à associação de anfotericina B e fluconazole e uma acção fungicida ligeiramente inferior à associação de anfotericina B e flucitosina [24].

A utilização de fluconazol (400-800 mg/dia) mais flucitosina (100-150 mg/kg/dia) durante 6 semanas é uma alternativa ao uso de anfotericina B contudo a toxicidade associada a este regime terapêutico é muito elevada [18].

Anfotericina B intratecal ou intraventricular pode ser uma alternativa aos casos em que a terapêutica fungicida sistêmica falhou [18]. Devido à elevada toxicidade e difícil administração deve apenas ser usada em caso de último recurso.

Quer nos doentes VIH positivos, quer nos VIH negativos com criptococose meníngea a elevação da pressão intracraniana ocorre como efeito lateral em cerca de 50% dos pacientes. A elevação da pressão intracraniana é importante preditor de morbidade e mortalidade na criptococose meníngea. A principal intervenção para diminuição da pressão intracraniana é a drenagem lombar percutânea. Entre os pacientes com pressão de abertura normal ( $< 20$  cm H<sub>2</sub>O) uma nova punção lombar deve ser realizada duas semanas após o início do tratamento para excluir aumento da pressão [26, 27]. Para os pacientes com elevado aumento da pressão intracraniana, drenagem lombar deve levar à redução de 50% da pressão de abertura. De seguida, numa fase inicial os doentes devem ser submetidos a punções lombares diárias, para manter a pressão intracraniana no seu nível basal normal [26, 27].

Quanto ao papel dos corticosteroides no tratamento da elevação de pressão intracraniana, este é ainda inconclusivo, existindo variados estudos mas com resultados contraditórios, sendo por isso o seu impacto na terapêutica desconhecido [25].

Estudos realizados para avaliação do poder terapêutico da acetazolamida e do manitol provaram que estes não trazem grandes benefícios no controlo do aumento da pressão intracraniana resultante de infecção criptocócica [25].

Infelizmente, em muitos locais cujos recursos de saúde são pobres, a anfotericina B não está disponível ou não pode ser utilizada em segurança pela incapacidade de realizar monitorização, estando apenas disponível o fluconazol para o qual estão criados programas de livre acesso e existem genéricos [29].

## **Síndrome de Reconstituição Imunológica**

Tal como foi descrito para outras infecções oportunistas, o início da HAART pode levar ao restabelecimento de uma resposta imunológica viável a microrganismos activos ou mortos que se encontram no organismo e como tal ocorre uma deterioração clínica paradoxal à esperada [10]. Desta forma, uma criptococose até então subclínica, manifesta-se ou pode ocorrer recaída de uma infecção previamente tratada.

Síndrome de reconstituição imunológica (SRI) está relatada em 6 a 10% dos pacientes com criptococose meníngea seguidamente à introdução da terapêutica anti-retrovírica, podendo ser até fatal [10].

SRI causado pelos microrganismos mais diversos, emergiu como uma das complicações principais após introdução da HAART nos doentes VIH e nos que se apresentam com criptococose meníngea pode ser o factor causador de falha terapêutica [28,30].

Alguns estudos apontam uma média de 30 dias após iniciado tratamento anti-fúngico para o início da sintomatologia clínica [31], embora exista descrição de alguns casos de ocorrência de manifestações clínicas após vários meses [30].

O diagnóstico de SRI é um diagnóstico de exclusão, sendo importante avaliar:

### **(A) Pré-requisitos**

- Toma de terapia anti-retroviral.
- Doença criptocócica diagnosticada pré-HAART por cultura positiva, coloração por tinta-da-china ou detecção de antigénio.
- A resposta inicial ao tratamento clínico com antifúngicos:
  - (1) resolução parcial ou completa dos sinais ou sintomas nomeadamente febre, ou
  - (2) redução do antigénio criptocócico no LCR ou do número de colónias de *C. neoformans* nas culturas.

## **(B) Os critérios clínicos**

- Evento ocorre no prazo de 12 meses a partir do início da HAART (a não ser que cultura positiva, num período de 3 meses após início da terapia anti-fúngica).
- A deterioração clínica com uma das seguintes manifestações inflamatórias da criptococose descritas abaixo:
  - Meningite
  - Linfadenopatia
  - Lesão intracraniana ocupante de espaço
  - Doença multifocal
  - Lesões Cutâneas / tecidos moles
  - Pneumonite ou nódulos pulmonares

## **(C) Outras explicações para a deterioração clínica que devem ser excluídas**

- A não-adesão ou a terapêutica antifúngica sub-ótima, indicada por um aumento quantitativo na cultura ou no título de antígenos após 3 meses.
- Outra infecção ou malignidade no local afectado.
- Exclusão de falha da HAART (por exemplo, falha em conseguir uma diminuição da carga viral em  $\geq 1 \log_{10}$  cópias / mL após 8 semanas de HAART).

A ocorrência de SRI na criptococose tem implicações na altura em que deverá ser instituída a terapêutica anti-retrovírica. Desta forma deve ser balanceado o risco entre a ocorrência de SRI com a introdução da HAART e as implicações na progressão da SIDA se a introdução da terapêutica for protelada [32].

A altura ideal para introdução da HAART é controversa, mas alguns autores defendem que esta possa ser instituída quatro semanas após início da terapêutica anti-fúngica, embora possa ser antecipada se um controlo inicial rápido e efectivo com os anti-fúngicos for conseguido [33].

Na realidade o aparecimento de SRI é bem maior do que está descrito, sendo muitas vezes erroneamente interpretado como uma falha terapêutica e novos regimes de anti-fúngicos são iniciados quando na verdade seria desnecessário [28].

## Perspectivas futuras

As razões pelas quais a taxa de mortalidade associada a criptococose meníngea em doente VIH continua elevada nos países em vias de desenvolvimento, prendem-se com o facto de um recurso inadequado às terapêuticas anti-fúngicas colocadas ao dispor das populações. Embora a disponibilidade da terapêutica anti-retroviral tenha aumentado nomeadamente nos continentes em que esta doença é ainda um flagelo, tais como África e Ásia, o acesso à anfotericina B e flucitosina tem diminuído. Em África, há estudos que reportam a inexistência de anfotericina B lipossómica, assim como um inconstante fornecimento de anfotericina B [34]. Instituições governamentais e as autoridades reguladoras dos fármacos devem ser encorajadas a produzir ou facilitar a importação de fármacos mais baratos nomeadamente genéricos [34].

Dadas as limitações existentes associadas à terapêutica antifúngica, tem existido um interesse crescente na aplicação de imunoterapia adjuvante. Um anticorpo monoclonal direccionado contra o polissacarídeo capsular do *C. neoformans* está em fase I dos estudos em humanos [35].

Uma outra alternativa terapêutica é o uso de interferão- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ), sobre o qual foram feitos estudos in-vivo que demonstraram a sua importância para o *clearance* da infecção em pacientes HIV [35].

Finalmente, vastos estudos têm vindo a ser desenvolvidos com vista a descobrir possíveis antígenos criptocócicos que poderão a vir a ser o alvo para actuação de uma vacina.

O grande desafio na elaboração desta vacina relaciona-se com o facto de ser necessário identificar antígenos que aumentem a resposta imunitária em cenários de imunodeficiência e que diminuam a resposta em casos de síndromes de reconstituição imunológica (ou outros casos de ganho de capacidade imunitária) [36].

## Bibliografia

1. World Health Organization. 2008. HIV/AIDS Epidemiological surveillance update for the W.H.O. African region. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
2. Nielsen K, Cox GM, Litvintseva AP, Mylonakis E, Malliaris SD, et al. 2005. *Cryptococcus neoformans*  $\alpha$  strains preferentially disseminate to the central nervous system during coinfection. *Infect. Immun.* 73:4922–33
3. Casadevall, A., and J. R. Perfect. 1998. *Cryptococcus neoformans*. ASM Press, Washington, D.C
4. Speed, B., and D. Dunt. 1995. Clinical and host differences between infections with the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. *Clin. Infect. Dis.* 21:28–34
5. Disponível em [www.unaids.org/en](http://www.unaids.org/en), acessado em 26 de Novembro de 2009
6. Lee, S.C., Dickson, D.W., and Casadevall, A. (1996). Pathology of cryptococcal meningoencephalitis: Analysis of 27 patients with pathogenetic implications. *Hum. Pathol.* 27(8): 839–847.
7. Dore GJ, Hoy JF, Mallal SA, Li Y, Mijch AM, French MA, et al. Trends in incidence of AIDS illnesses in Australia from 1983 to 1994: the Australian AIDS cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1997; 16:39–43.
8. Chuck SL, Sande MA. Infections with *Cryptococcus neoformans* in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1989; 321:794–799.
9. Hajjeh RA, Conn LA, Stephens DS, Baughman W, Hamill R, Graviss E, et al. Cryptococcosis: population-based multistate active surveillance and risk factors in human

immunodeficiency virus-infected persons. Cryptococcal Active Surveillance Group. *J Infect Dis* 1999; 179:449–454.

10. Jarvis J. N., Harrison T. S. (2007) HIV-associated cryptococcal meningitis. *AIDS* 2007, 21:2119–2129

11. Igreja RP, Lazera Mdos S, Wanke B, Galhardo MC, Kidd SE, Meyer W. 2004. Molecular epidemiology of *Cryptococcus neoformans* isolates from AIDS patients of the Brazilian city, Rio de Janeiro. *Med. Mycol.* 42:229–38

12. Currie BP, Freundlich LF, Casadevall A. 1994. Restriction fragment length polymorphism analysis of *Cryptococcus neoformans* isolates from environmental (pigeon excreta) and clinical sources in New York City. *J. Clin. Microbiol.* 32:1188–92

13. Martinez, L.R., Garcia-Rivera, J., and Casadevall, A. (2001). *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotype D) strains are more susceptible to heat than *C. neoformans* var. *grubii* (serotype A) strains. *J. Clin. Microbiol.* 39(9): 3365–3367.

14. Chen, S., Sorrell, T., Nimmo, G., Speed, B., Currie, B., Ellis, D., Marriot, D., Pfeiffer, T., Parr, D., and Byth, K. (2000). 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.* 31(2): 499–508.

15. Casadevall, A., Rosas, A.L., Nosanchuk J. D. (2000) Melanin and virulence in *Cryptococcus neoformans*. *Current Opinion in Microbiology*, 3:354–358

16. Bahn YS, Cox GM, Perfect JR, Heitman J. 2005. Carbonic anhydrase and CO<sub>2</sub> sensing during *Cryptococcus neoformans* growth, differentiation, and virulence. *Curr. Biol.* 15:2013–20

17. Buchanan, Kent L. (1999) Innate and Acquired Immunity in *Cryptococcus neoformans* Infections of the Central Nervous System, New Orleans. Department of Microbiology and Immunology, 24:460-480
18. Saag MS, Graybill RJ, Larsen RA, et al. Practice guidelines for the management of cryptococcal disease. Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2000, 30:710-8.
19. Van der Horst CM, Saag MS, Cloud GA, Hamill RJ, Graybill JR, Sobel JD, et al. Treatment of cryptococcal meningitis associated with the acquired immunodeficiency syndrome. National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group and AIDS Clinical Trials Group. N Engl J Med 1997; 337:15–21.
20. Saag MS, Powderly WG, Cloud GA, Robinson P, Grieco MH, Sharkey PK, et al. Comparison of amphotericin B with fluconazole in the treatment of acute AIDS-associated cryptococcal meningitis. The NIAID Mycoses Study Group and the AIDS Clinical Trials Group. N Engl J Med 1992; 326:83–89.
21. Shoffski, P.; Freund, M.; Wunder, R.; Petersen, D.; Köhn, C.H.; Hecker, H.; Schubert, U.; Ganser, A. Safety and toxicity of amphotericin B in glucose 5% or intralipid 20% in neutropenic patients with pneumonia or fever of unknown origin: randomized study. *BMJ*, v. 317, p. 379-384. 1998.
22. Walsh, T.; Finbert, R.W.; Arndt, C.; Hiememz, J.; Schwartz, C.; Bodensteiner, D.; Pappas, P.; Seibel, N.; Greenberg, R.N.; Dummer, S.; Schuster, M.; Holcenberg, J.S. Liposomal amphotericin B por empirical therapy in patients with persistent fever and neutropenia. *NEJM*, v. 340, p. 764-771, 1999.
23. Leenders AC, Reiss P, Portegies P, et al. Liposomal amphotericin B (Ambisome) compared with amphotericin B followed by oral fluconazole in the treatment of AIDS-associated cryptococcal meningitis. *AIDS* 1997; 11:1463–71.

24. Brouwer AE, Rajanuwong A, Chierakul W, Griffin GE, Larsen RA, White NJ, et al. Combination antifungal therapies for HIV-associated cryptococcal meningitis: a randomised trial. *Lancet* 2004; 363:1764–1767.
25. Bozzette SA, Larsen RA, Chiu J, et al. A placebo-controlled trial of maintenance therapy with fluconazole after treatment of cryptococcal meningitis in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1991; 324:580–4.
26. Denning DW, Armstrong RW, Lewis BH, Stevens DA. Elevated cerebrospinal fluid pressures in patients with cryptococcal meningitis and acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med* 1991; 91:267–72.
27. Graybill JR, Sobel J, Saag M, et al, Cerebrospinal fluid hypertension patients with AIDS and cryptococcal meningitis [abstract I-153]. In: Program and abstracts of the 37th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Toronto, ON, Canada). Washington, DC: American Society for Microbiology, 1997.
28. Guidelines for Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents - Recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America
29. Shelburne SA, Visnegarwala F, Darcourt J, et al. Incidence and risk factors for immune reconstitution inflammatory syndrome during highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2005; 19:399–406.
30. Lortholary O, Fontanet A, Memain N, et al. Incidence and risk factors of immune reconstitution inflammatory syndrome complicating HIV-associated cryptococcosis in France. *AIDS* 2005; 19:1043–1049.
31. Shelburne SA III, Darcourt J, White AC Jr, Greenberg SB, Hamill RJ, Atmar RL, et al. The role of immune reconstitution inflammatory syndrome in AIDS-related *Cryptococcus*

neoformans disease in the era of highly active antiretroviral therapy. Clin Infect Dis 2005; 40:1049–1052

32. Bicanic T, Harrison T, Niepieklo A, Dyakopu N, Meintjes G. Symptomatic relapse of HIV-associated cryptococcal meningitis after initial fluconazole monotherapy: the role of fluconazole resistance and immune reconstitution. Clin Infect Dis 2006; 43:1069–1073.

33. John R. Perfect, William E. Dismukes, et al. Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America. IDSA 2010

34. Bicanic T, Wood R, Bekker LG, Darder M, Meintjes G, Harrison TS. Antiretroviral roll-out, antifungal roll-back: access to treatment for cryptococcal meningitis. Lancet Infect Dis 2005; 5:530–531.

35. Larsen RA, Pappas PG, Perfect J, Aberg JA, Casadevall A, Cloud GA, et al. Phase I evaluation of the safety and pharmacokinetics of murine-derived anticryptococcal antibody 8B7 in subjects with treated cryptococcal meningitis. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49:952–958.

36. Datta K, Pirofski LA, Towards a vaccine in *Cryptococcus Neoformans*: principles and caveats. FEMS Yeast Res 6 (2006) 525-536

## Anexos

**Tabela 1. Recomendações de terapêutica antifúngica para doentes HIV com criptococose meníngea**

	Regime diário preferido [10, 24]	Notas:
Primeiras 2 semanas	Anfotericina B (AmB) 0.7-1.0mg mais flucitosina 100mg/Kg <sup>b</sup>	Se a flucitosina não for tolerada ou não estiver disponível administrar AmB 1mg/Kg/ dia  Se anfotericina B não tolerada, considerar anfotericina B lipossômica; se não trocar precocemente para fluconazole na dose de 800 mg/dia  Se não existir facilidade na administração I.V. considerar administração de fluconazol em dose $\geq 800$ mg/dia
8 semanas seguintes	Fluconazol 400mg	

<sup>a</sup>Adaptado de Harrison, 2007 (Harrison TS., Jarvis JN.HIV-associated Cryptococcal meningitis. AIDS 2007, 21:2119–2129).

<sup>b</sup> Adaptar em caso de insuficiência renal; formulação oral ou intravenosa; se formulação intravenosa administrar 75mg/Kg/dia

<sup>c</sup> Adaptar em caso de insuficiência renal; aumentar a dose 50% se uso concomitante de anfotericina B