

## ESTUDO COMPARATIVO DO LCR DE PACIENTES COM NEUROCRÍPTOCOCOSE SEM AIDS E COM AIDS

João Baptista dos REIS-FILHO (1), Sandro Luiz Andrade MATAS (2), Olga FISCHMAN (3),  
Belinda Calvo MORALES (4) & Yara JULIANO (5)

### RESUMO

Até a década de 80, antes do surgimento da AIDS, a criptococose era relativamente rara. Verificou-se que esta doença afeta muito frequentemente os pacientes com AIDS e pode ser a primeira manifestação desta síndrome.

O objetivo deste trabalho é o de comparar o resultado dos exames das amostras do LCR inicial na meningencefalite por criptococo entre pacientes com e sem AIDS.

Este trabalho é baseado no estudo de 41 pacientes com neurocriptococose sem AIDS e de 23 pacientes com neurocriptococose e AIDS.

Este estudo permitiu verificar que a reação inflamatória, no sistema nervoso, quando presente, foi de menor intensidade nos pacientes com AIDS; a reação inflamatória esteve presente em todos os pacientes sem AIDS e ausente em 21,7% dos pacientes com AIDS; o quadro inflamatório crônico, semelhante ao da meningencefalite tuberculosa, clássico nas meningencefalites por criptococo, ocorreu raramente nos pacientes com AIDS; em média, o número de criptococos no LCR foi maior nos pacientes com AIDS; pode ser feito diagnóstico presuntivo da AIDS quando o criptococo estiver presente no LCR que não apresenta alterações citológicas e bioquímicas.

UNITERMOS: Neurocriptococose; AIDS; LCR.

### INTRODUÇÃO

A criptococose é doença causada pelo *Cr. neoformans* de distribuição universal, de evolução sub-aguda ou crônica, fatal quando não tratada.

O seu agente é uma levedura que se apresenta, quando em líquidos orgânicos, encapsulada e que se reproduz por gemulação, com tamanho médio de 4 a 6 micras de diâmetro. Nas culturas, a cápsula está

frequentemente ausente ou com dimensões diminutas<sup>23</sup>.

A estrutura imunoquímica da cápsula permite dividir o *Cr. neoformans* em 4 sorotipos: A, B, C, e D. A sorotipagem subdivide o *Cr. neoformans* em duas variações: sorotipos A e D em *Cr. neoformans var. neoformans*, e sorotipos B e C em *Cr. neoformans var. gattii*<sup>13</sup>. Os sorotipos B e C parecem acometer indivíduos sem

Resumo da Tese de S. L. A. Matas, para obtenção do Título de Mestre realizada na Pós-Graduação em Clínica Neurológica, Setor de Líquido Cefalorraquiano - Escola Paulista de Medicina. Trabalho parcialmente financiado pelo CNPq.

- (1) Prof. Adjunto da Disciplina de Neurologia, Pesquisador do CNPq e Chefe do Setor de L. C. R.
- (2) Médico da Disciplina de Neurologia, Mestre e Preceptor dos Residentes no Setor de L. C. R.
- (3) Prof. Adjunto da Disciplina de Biologia Celular.
- (4) Médica com Título de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias
- (5) Prof. Assistente da Disciplina de Bioestatística

Endereço para correspondência: Prof. Dr. J. B. Reis-Filho, Disciplina de Neurologia, Escola Paulista de Medicina, Rua Botucatu, 714, CEP 04023-900 São Paulo/SP, Brasil.

aparente comprometimento da imunidade. Já os sorotipos A e D incidem com maior frequência em pacientes com imunidade celular comprometida <sup>31</sup>.

Até a década de 80, antes do surgimento da AIDS, a criptococose era considerada relativamente rara <sup>17, 25</sup>. Verificou-se que esta doença afeta muito frequentemente os pacientes com AIDS <sup>21</sup>, podendo em alguns casos ser a primeira manifestação desta síndrome <sup>15</sup>.

A AIDS traz profundas alterações no sistema imunológico, principalmente na imunidade celular mediada pelo linfócito T, facilitando a instalação, sobrevivência e proliferação do *Cr. neoformans* <sup>15</sup>.

O diagnóstico de certeza da neurocriptococose é feito pela análise do LCR, onde o fungo pode ser encontrado em 98% dos casos, pelo método direto e/ou pela cultura <sup>6, 17, 25</sup>.

A prova do látex tem valor auxiliar, permitindo avaliar a gravidade da infecção fúngica, variando, entre 90% e 100%, sua sensibilidade <sup>4, 7, 14, 17</sup>.

Tem sido citada na literatura ausência de reação inflamatória no LCR à presença do criptococo no sistema nervoso em pacientes com AIDS <sup>8, 10, 11, 17, 24</sup>.

O objetivo da presente investigação é o de comparar o resultado dos exames das amostras do LCR inicial na meningencefalite por criptococo entre pacientes com e sem AIDS.

## MATERIAL E MÉTODO

O material do presente estudo é constituído por amostras do LCR inicial de 64 pacientes com neurocriptococose, divididas em dois grupos: Grupo I - Amostras de LCR de 41 pacientes com neurocriptococose, sem sinais ou sintomas da AIDS e Grupo II - Amostras de LCR de 23 pacientes com neurocriptococose e com AIDS. O diagnóstico de neurocriptococose foi feito pelo achado do criptococo no sedimento do LCR, pela pesquisa direta, em preparações microscópicas, com coloração a fresco com tinta da China. O diagnóstico da AIDS foi feito pelos sinais e sintomas e pela positividade das reações imunobiológicas para HIV. Todas as amostras de LCR foram analisadas no setor de Líquido Cefalorraquiano, da Disciplina de Neurologia do Departamento de Neurologia e Neurocirurgia da Escola Paulista de Medicina.

Foram determinados, em cada grupo, o número global de células/mm<sup>3</sup> (câmara de Fuchs-Rosenthal), o número de criptococos/mm<sup>3</sup> (câmara de Fuchs-Rosenthal), a taxa de proteínas totais em mg/100ml (Método de Denis-Ayer), a taxa de glicose em mg/100ml (Método de Folin-Wu) e a taxa de cloretos em mg/100ml (Método de Mohr). Os métodos empregados e os limites de normalidade foram aqueles preconizados por REIS et al. (1980) <sup>23</sup>.

Os resultados foram comparados, sendo utilizados testes não paramétricos, levando-se em consideração a natureza das distribuições ou a variabilidade dos valores das medidas efetuadas. Aplicou-se o teste de Mann-Whitney para duas amostras independentes <sup>30</sup> com o objetivo de comparar os grupos de pacientes com e sem AIDS, em relação aos valores das variáveis estudadas. Tendo em vista o tamanho das amostras, aplicou-se este teste com aproximação à curva normal. O teste do quiquadrado <sup>28</sup> foi utilizado para as tabelas de associação quando foram comparados os grupos I e II com relação à frequência das variáveis estudadas. Foi aplicado o Teste exato de Fisher <sup>29</sup> quando as restrições de Cochran assim o exigiram. Em todos os testes fixou-se em 0,05 ou 5% ( $p < 0,05$ ) o nível para a rejeição.

## RESULTADOS

O número de células e o de criptococos nas amostras de LCR variou respectivamente de 2,4 a 2.600/mm<sup>3</sup> (média de 236/mm<sup>3</sup>) e de 0,1 a 1.200/mm<sup>3</sup> (média de 103/mm<sup>3</sup>) no grupo I e de 0,4 a 120/mm<sup>3</sup> (média de 14/mm<sup>3</sup>) e de 0,1 a 6.000/mm<sup>3</sup> (média de 834/mm<sup>3</sup>) no grupo II, com diferença significativa entre os dois grupos, com alfa < 5% (Tabela 1).

As taxas de proteínas e de cloretos variaram respectivamente de 23 mg/100ml a 440 mg/100ml (média de 81 mg/100ml) e de 608 mg/100ml a 819 mg/100ml (média de 725 mg/100ml) no grupo I e de 12 mg/100ml a 440 mg/100ml (média de 108 mg/100ml) e de 685 mg/100ml a 761 mg/100ml (média de 715 mg/100ml) no grupo II. Não houve diferença significativa entre os dois

TABELA 1  
Valores médios dos parâmetros estudados

	Células	Criptococos	Proteínas	Cloretos	Glicose
Grupo I	243	104	110	715	42
Grupo II	14	834	81	725	47

grupos quando comparados pela média e quando comparados pelo número de amostras com taxas alteradas (Tabela 1).

A taxa de glicose variou de 5 mg/100ml a 110 mg/100ml com média de 48 mg/100ml no grupo I e de 12 mg/100ml a 78 mg/100ml com média de 42 mg/100ml no grupo II. A análise estatística destes dados não mostrou diferença significativa entre os dois grupos (Tabela 1); porém quando comparamos as taxas de glicose dos dois grupos pelo número de amostras com taxas diminuídas, verificamos que 26 amostras de LCR dos pacientes do grupo I (63,4%) tinham taxa de glicose inferior a 50mg/100ml e apenas 8 do grupo II (37,7%) apresentavam essa alteração. A diferença, com relação à taxa de glicose, entre amostras dos Grupos I e II, quando analisada desta forma, mostrou-se significativa (Tabela 2).

O número de amostras de LCR que apresentou quadro laboratorial semelhante ao de meningotuberculose

foi de 13 (31,71%) nos pacientes sem AIDS e de um, nos pacientes com AIDS (4,35%). Diferença essa significativa (Tabela 3).

As amostras de LCR dos pacientes do grupo II com citologia global, taxas de proteínas, cloretos e glicose normais foi de 5 (21,74%). Não houve nenhuma amostra de LCR dos pacientes do grupo I com estes parâmetros normais. Esta diferença observada mostrou-se significativa (Tabela 4).

## COMENTÁRIOS

A síndrome do LCR na meningencefalite por criptococo tem sido descrita ser semelhante ao da meningencefalite por tuberculose<sup>2, 16, 22, 25</sup> que é caracterizada por uma reação celular predominantemente linfomonocitária, geralmente não excedendo a 500 células/mm<sup>3</sup>, elevação da taxa de proteínas, diminuição das taxas de cloretos e de glicose. Na presente investigação, aproximadamente, 1/3 (31,7%) dos pacientes sem AIDS (Grupo I) e apenas um dos pacientes com AIDS (Grupo II) apresentaram essa síndrome (Tabela 3). A ausência da reação inflamatória à presença do *Cr. neoformans* no sistema nervoso em pacientes com AIDS tem sido descrita por outros pesquisadores<sup>5, 8, 10, 11, 17, 24</sup>.

No grupo com AIDS, 1/5 dos pacientes (21,7%), apresentaram LCR normal, em seu aspecto bioquímico e citológico. Todas as amostras de LCR dos pacientes sem AIDS, apresentaram alterações bioquímicas e/ou citológicas. A análise estatística deste fato mostrou diferença significativa (Tabela 4). E uma constatação que deve ser enfatizada e permite afirmar que a presença de criptococo em LCR com exame citológico e químico normal faz o diagnóstico presuntivo da AIDS.

A comparação dos outros dados confirma a anergia do paciente com AIDS ao criptococo. Assim, nas amostras de LCR do Grupo I a média do número global de células foi de 236 por mm<sup>3</sup>, variando de 2,4 a 2.600 por mm<sup>3</sup>, enquanto que no grupo II a média foi de 14,4, variando de 0,4 a 120 células por mm<sup>3</sup>, significativamente menor (Tabela 1). O número de amostras com contagem global normal foi também significativamente maior no grupo dos pacientes com AIDS; 15 amostras neste grupo e apenas uma amostra no grupo I. No mesmo sentido da falta de reação do organismo nos pacientes com AIDS com relação ao número de criptococos/mm<sup>3</sup>

TABELA 2  
Taxa de glicose inferior a 50 mg/100ml

	Número de pacientes	%
Grupo I (sem AIDS)	26	63,4
Grupo II (com AIDS)	8	30,4

Teste do Qui Quadrado  
X<sup>2</sup> Calculado = 6,42 \* X<sup>2</sup> Crítico = 3,84

TABELA 3  
Quadro inflamatório crônico

	Número de casos	%
Grupo I (sem AIDS)	13	31,7
Grupo II (com AIDS)	1	4,3

Teste do Qui Quadrado  
X<sup>2</sup> Calculado = 6,45 \* X<sup>2</sup> Crítico = 3,84

TABELA 4  
L.C.R. normal

	Número de casos	%
Grupo I (sem AIDS)	0	0
Grupo II (com AIDS)	5	21,7

Teste exato de Fisher  
p = 0,004413 \* ou 0,44%

observamos que há uma acentuada diferença entre os dois grupos: uma média de 834,8/mm<sup>3</sup> e de 104,1/mm<sup>3</sup>, respectivamente, nos pacientes com AIDS e sem AIDS (Tabela 1).

Estas duas constatações são certamente decorrentes do grave déficit imunitário celular que ocorre na AIDS, onde o comprometimento principal ocorre nos linfócitos T auxiliares. A resposta imunológica que o criptococo evoca, tanto no sistema nervoso central como em outros órgãos, é basicamente celular. Os linfócitos T killer, T supressor e T auxiliador desempenham papel fundamental na destruição do criptococo, tanto por citotoxicidade direta, como auxiliando na opsonização com fixação do complemento iC3b à parede do criptococo, propiciando a fagocitose por macrófagos e polimorfonucleares neutrófilos<sup>12, 19, 20, 21</sup>. O T auxiliador parece desenvolver importante papel na modulação da resposta celular efetiva. Estas células são caracterizadas pela presença de um receptor glicoprotéico identificado como CD4 na superfície de sua membrana celular. O agente da AIDS é um retrovírus da família lentivirus que invade e destrói os linfócitos T auxiliares. Macrófagos e monócitos, por possuírem, embora em pequena quantidade, o CD4 em sua membrana, também são alvos da invasão viral. Laboratorialmente a alteração encontrada é uma inversão da relação entre os linfócitos auxiliares (CD4+) e os linfócitos supressores (CD8+) com aumento relativo destes últimos em decorrência da diminuição dos primeiros<sup>1, 9, 18</sup>. A diferença encontrada entre a resposta celular e o número de criptococos entre os dois grupos estudados pode ser explicada pela destruição dessas células. O LCR não tendo as substâncias anti-criptocócicas que estão no plasma e tão pouco uma resposta celular adequada, propiciaria condições para uma acentuada proliferação dos criptococos. Outra possibilidade é de que esta divergência esteja ligada à virulência dos sorotipos de criptococos que acometem os dois grupos. Devemos lembrar que os sorotipos que mais frequentemente acometem os indivíduos com AIDS são os sorotipos A e D, mesmo naqueles pacientes vindos de áreas onde sabidamente há *Cr. neoformans* sorotipo B e C<sup>3, 26</sup>. Estes sorotipos do *Cr. neoformans* var. *neoformans*, podem diferir quanto à virulência se comparados ao *Cr. neoformans* var. *gattii* que parece ser mais virulento e com maior incidência de invasão do sistema nervoso<sup>27</sup>. Dessa forma, um ou outro fenômeno, ou mais provavelmente a somatória de ambos, explicaria os resultados encontrados em relação ao número de células e de criptococos.

Assim, podendo a criptococose ser a apresentação inicial da AIDS<sup>11</sup>, o achado de grande quantidade de criptococos com número global de células normal no LCR, deve alertar o médico para possibilidade da associação criptococose e AIDS.

A taxa de glicose, quando estudada pela média, não revelou diferença estatisticamente significativa (Tabela 1). Porém observamos que, se comparados o número de casos com glicose diminuída (abaixo de 50mg/100ml), 26 amostras de LCR dos pacientes sem AIDS (63,4%), contra 7 amostras de LCR dos pacientes com AIDS (30,4%) (Tabela 2), a análise estatística deste achado mostrou diferença significativa.

Os estudos estatísticos das taxas de proteínas e de cloretos (Tabela 1) não revelaram diferenças significantes. Isto deve-se provavelmente ao fato de que a alteração da taxa de proteínas está ligada à maior ou menor permeabilidade da barreira sangue/LCR, e a taxa de cloretos à homeostase hidroeletrólítica, ou seja, a fenômenos fisiopatológicos não ligados diretamente à imunidade.

## SUMMARY

### Comparison between CSF samples from AIDS and non-AIDS patients with neurocryptococcosis

Neurocryptococcosis was a rare nervous system infection. With the rising number of patients with AIDS it became a very frequent disease. This infection is supposed to infect patients with some kind of immunodeficiency and the CSF alterations often simulate tuberculous meningitis. The purpose of this research was to compare the CSF changes in AIDS and non-AIDS patients with meningoencephalitis caused by *Cr. neoformans*. There were analysed 41 CSF samples from non-AIDS patients with neurocryptococcosis and 23 CSF samples from AIDS patients with neurocryptococcosis. The results of this research allowed to conclude that the inflammatory changes in the CSF from AIDS patients showed a lower intensity compared to those non-AIDS patients.

These results showed as well, that the CSF samples from non-AIDS patients always revealed some changes besides the yeast cells. In some samples of AIDS patients, however the unique change was the presence of the yeast. It was demonstrated also, that the presence of

*Cr. neoformans* in CSF, not accompanied by any other change, may suggest that is a patient with AIDS. In non-AIDS patients CSF alterations often simulates tuberculous meningitis. However these alterations were rare in AIDS patients. The yeast cells were more numerous in CSF samples from AIDS patients than in those from non-AIDS patients.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLATTNER, W. A. - HIV epidemiology: past, present, and future (Reviews). *FASEB J.*, 5: 2340-2348, 1991.
- BUTLER, W. T.; ALLING, D. W.; SPICKARD, A. & UTZ, J. P. - Diagnostic and prognostic value of clinical and laboratory finding in cryptococcal meningitis. A follow-up study of forty patients. *New Engl. J. Med.*, 270: 59-67, 1964.
- CALVO, B.; FISCHMAN, O.; PIGNATARI, A.; DEL BIANCO, R. & ZAROR, L. - Variedades y serotipos de *Cryptococcus neoformans*, en pacientes con SIDA y neurocriptococosis en São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 32: 480-482, 1990.
- CALVO, B.; FISCHMAN, O.; CASTELO-FILHO, A. et al. - Detecção de antígeno del polisacárido capsular de *Cryptococcus neoformans* en pacientes con SIDA y neurocriptococosis en São Paulo, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 33: 485-490, 1991.
- GIBERSON, T. P. & KALYAN-ROMAN, K. - Cryptococcal meningitis: initial presentation of acquired immune deficiency syndrome. *Ann. emerg. Med.*, 16: 802-804, 1987.
- GIORGI, D. R.; REIS, J. B.; BEI, A. & REIS FILHO, J. B. - Criptococose do sistema nervoso central: experiência atual do serviço de neurologia da Escola Paulista de Medicina. *Arq. Neuro-psiquiat.* (S. Paulo), 32: 77-92, 1974.
- GOODMAN, J. S.; KAUFMAN, L. & KOENIGO, M. G. - Diagnosis of cryptococcal meningitis: value of immunologic detection of cryptococcal antigen. *New Engl. J. Med.*, 285: 434-436, 1971.
- GUDESBLATT, M.; GERBER, O.; VAILLANCOURT, P. D. & BRONSTER, D. - Liquide Céphalo-Rachidien quasi-normal chez des patients atteints du syndrome d'immunodéficience acquise et d'une méningite a cryptocoque. *Rev. neurol.*, 143: 290-293, 1987.
- HASELTINE, W. A. - Molecular biology of the human immunodeficiency virus type 1. *FASEB J.*, 5: 2349-2357, 1991.
- HOLMBERG, K. & MEYER, R. D. - Fungal infections in patients with AIDS and AIDS related complex. *Scand. J. infect. Dis.*, 18: 179-192, 1986.
- KOVACS, J. A.; KOVACS, A. A.; POLIS, M. et al. - Cryptococcosis in acquired immune deficiency syndrome. *Ann. intern. Med.*, 103: 533-538, 1985.
- KOZEL, T. R. & PFROMMER, G. S. - Activation of the complement system by *Cryptococcus neoformans* leads to binding of iC3b to the yeast. *Infect. Immun.*, 52: 1-5, 1986.
- KWON CHUNG, K. J.; POLACHECK, I. & BENNETT, J. E. - Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). *J. clin. Microbiol.*, 15: 535-537, 1982.
- LACAZ, C. S. & RODRIGUES, M. C. - Serotipagem do *Cryptococcus neoformans*. *Rev. bras. Med.*, 40: 297-300, 1983.
- LEVY, R. M.; BREDESEN, D. E. & ROSENBLUM, M. L. - Review article. Neurological manifestations of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): experience at UCSF and review of literature. *J. Neurosurg.*, 63: 475-495, 1985.
- LITTMAN, M. L. - *Cryptococcosis* (Torulosis). Current concepts and therapy. *Amer. J. Med.*, 27: 976-997, 1959.
- LIVRAMENTO, J. A.; MACHADO, L. R.; NOBREGA, J. P. S. et al. - CSF in 85 patients with AIDS and CNS cryptococcosis. *Arq. Neuro-psiquiat.* (S. Paulo), 50: 491-496, 1992.
- MAK, T. W. & WIGZELL, H. - AIDS: ten years later (Overview). *FASEB J.*, 5: 2338-2339, 1991.
- MURPHY, J. W. & McDANIEL, D. O. - In vitro reactivity of natural killer cells against *Cryptococcus neoformans*. *J. Immunol.*, 128: 1577, 1982.
- MURPHY, J. W. & MOORHEAD, J. W. - Regulation of cell-mediated immunity in cryptococcosis. I. Induction of specific afferent T-suppressor cells by cryptococcal antigen. *J. Immunol.*, 128: 276, 1982.
- NABORI, N. & MURPHY, J. W. - Antibody-dependent natural killer cell-mediated growth inhibition of *Cryptococcus neoformans*. *Infect. Immun.*, 51: 556, 1986.
- REIS, J. B. & BEI, A. - O líquido cefalorraquiano no diagnóstico da criptococose do sistema nervoso. *Arq. Neuro-psiquiat.* (S. Paulo), 14: 201-212, 1956.
- REIS, J. B.; BEI, A.; REIS FILHO, J. B. & NASSER, J. - *Líquido cefalorraquiano*. São Paulo, Sarvier, 1980.
- REIS FILHO, J. B.; BERZAGHI, M. P. & MENDES, M. F. - Neurocriptococose assintomática em paciente com síndrome da imunodeficiência adquirida. Relato de um caso. *Rev. bras. Neurol.*, 23: 93-94, 1987.
- REIS FILHO, J. B.; NEVES, A. C.; ZYMBERG, S. T. & OLIVEIRA, R. M. C. - O líquido cefalorraquiano inicial nas meningencefalites por *Cryptococcus neoformans*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 27: 173-178, 1985.
- RINALDI, M.; DRUTZ, D. J. & HOWELL, A. - Serotypes of *Cryptococcus neoformans* in patients with AIDS. *J. infect. Dis.*, 153: 642, 1986.
- SHIMIZU, R. Y.; HOWRD, D. H. & CLANCY, M. N. - The variety of *Cryptococcus neoformans* in patients with AIDS. *J. infect. Dis.*, 154: 1042, 1986.
- SIEGEL, S. - La prueba x2 de una muestra. IN: SIEGEL, S. - *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. 2. ed. México, Trillas, 1975. p. 64-69.
- SIEGEL, S. - La prueba de la probabilidad exacta de Fischer. IN:

- SIEGEL, S. - *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. 2ed. México, Trillas, 1975. p. 121-130.
30. SIEGEL, S. - La prueba U de Mann-Whitney. In: SIEGEL, S. - *Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta*. 2 ed. México, Trillas, 1975. p. 143-155.
31. WALTER, J. E. & COFEE, E. G. - Distribution and epidemiologic significance of the serotypes of *Cryptococcus neoformans*. *Amer. J. Epidem.*, 87: 167-172, 1968.

Recebido para publicação em 31/08/1993.

Aceito para publicação em 23/11/1993.