

## HISTOPLASMOSE DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

### ESTUDO DO LÍQUIDO CEFALORRAQUEANO EM 8 PACIENTES

J.A. LIVRAMENTO \*, L.R. MACHADO \*, J.P.S. NÓBREGA \*,  
L.S. VIANNA \*\*, A. SPINA-FRANÇA \*\*\*

**RESUMO** — Foram estudadas 113 amostras de LCR de 8 pacientes no período compreendido entre setembro-1980 e agosto-1992. Todos os pacientes apresentavam quadro clínico e do LCR compatível a um processo meningoencefalítico de evolução protraída. Nenhum deles apresentava a síndrome de imunodeficiência adquirida. Em todos foi feito o diagnóstico de histoplasmose do SNC; em todos foram detectados anticorpos a *Histoplasma capsulatum* no LCR; em um foi isolada a levedura por cultura em meio de Sabouraud. As principais características do LCR por ocasião do diagnóstico foram: pleocitose moderada com predomínio de células linfomononucleadas porém com presença de neutrófilos e por vezes eosinófilos; hiperproteinorraquia moderada; hipoglicorraquia; aumento moderado do teor de globulinas gama. Os pacientes foram acompanhados durante períodos que variaram de 7 a 102 meses e submetidos a exames periódicos de LCR, em função da sintomatologia clínica. O número de células do LCR e a concentração de proteínas totais apresentaram evolução caracterizada pela ocorrência de episódios de exacerbação com perfil parcialmente dissociado, favorecendo as proteínas. As concentrações de glicose eram moderadamente baixas sendo os menores valores coincidentes aos períodos de exacerbação do número de células. Os teores de globulinas gama apresentaram também oscilações, porém menos evidentes. Submetidos os pacientes a tratamento eficaz, ocorreu no LCR: rápida diminuição do número de células; aumento da taxa de glicose; lento decréscimo dos aumentos de proteínas e de globulinas gama.

**PALAVRAS-CHAVE:** histoplasmose, sistema nervoso central, líquido cefalorraqueano, meningite crônica.

**Central nervous system histoplasmosis: cerebrospinal fluid study of eight patients.**

**SUMMARY** — One hundred and thirteen samples of CSF from eight patients with chronic meningitis were studied in a 12 years period (September, 1980 - August, 1992). None of them had AIDS. In all, CNS histoplasmosis diagnosis was made by CSF examination. All cases tested positive for antibodies to *Histoplasma capsulatum* in CSF; in one case the yeast grew in Sabouraud culture in three different occasions. The main findings in CSF by the time of the diagnosis were: moderate hypercytosis marked by lymphocytes and monocytes, neutrophils-being present and in some cases eosinophil cells; moderate increase of total proteins content; decrease in the glucose content; and moderate increase of gamma globulins sometimes with oligoclonal reaction. Patients were followed-up from 7 to 102 months, and periodically submitted to CSF examinations according to clinics. Cell number and total protein content of CSF showed marked episodes of exacerbation in the follow-up, with a dissociated profile favoring total protein content which got higher with the chronification of the disease. Changes in the CSF pattern with treatment were: rapid decrease of hypercytosis; disappearance of neutrophil and eosinophil cells; increase in glucose content; and slow reduction of the increased contents of total proteins and gamma globulins.

**KEY WORDS:** histoplasmosis, central nervous system, cerebrospinal fluid, chronic meningitis.

CIN, Centro de Investigações em Neurologia, Departamento de Neurologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP)/LSF (Laboratório de Neurodiagnóstico): \* Médico Assistente; \*\* Médico Pesquisador; \*\*\* Professor Emérito. Aceite: 19-agosto-1992.

A histoplasmose do sistema nervoso central (SNC) é doença rara em nosso meio<sup>8</sup>. A incidência de histoplasmose do SNC tem sido estimada entre 10 e 29% nos casos de infecção disseminada por histoplasma<sup>1,2,5,6,14,17</sup>. Não raro, está associada a doenças debilitantes e a imunossupressão, seja medicamentosa ou adquirida<sup>7,9,10</sup>. A apresentação clínica na maioria das vezes é de uma meningoencefalite subaguda ou crônica. A duração dos sintomas até o diagnóstico pode variar de 2 meses (mais de 70% dos casos) até vários anos<sup>4</sup>. O principal exame para o diagnóstico continua a ser o do líquido cefalorraqueano (LCR). Este apresenta características das síndromes do LCR em meningoencefalites subagudas, com pleocitose moderada, aumento da concentração proteica, hipoglicorraquia e aumento do teor de globulinas gama. No entanto, ao contrário de outras meningoencefalites por leveduras, como a criptocócica<sup>11</sup>, há dificuldade para detectar o agente etiológico ao exame direto e também para seu crescimento em meios de cultura. Na atualidade existem reações imunológicas seja para pesquisa de anticorpos a *Histoplasma capsulatum* (*Histoplasma capsulatum*) seja para a pesquisa de antígenos, que levam a um diagnóstico de segurança no LCR para essa infecção<sup>12,15,18-20</sup>.

O objetivo deste estudo é a análise de 113 amostras de LCR de 8 pacientes com meningoencefalite subaguda ou crônica, cujo diagnóstico de histoplasmose do SNC foi feito pela detecção no LCR de anticorpos a *Histoplasma capsulatum* ou pelo crescimento da levedura em meio de cultura a partir do sedimento do LCR.

#### CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram estudadas 113 amostras de LCR de 8 pacientes no período compreendido entre setembro-1980 e agosto-1992. Todos os pacientes apresentavam quadro clínico e do LCR compatível a processo meningoencefalítico de evolução protraída e nenhum deles apresentava AIDS ou outras condições que levassem a imunodeficiência. Dos 8 pacientes, 6 eram do sexo masculino e 2 do feminino. Todos eram de cor branca. A média de idade era 26,8 anos, com variação de 12 a 52 anos (Tabela 1). Os pacientes foram acompanhados durante períodos que variaram de 7 a 102 meses (média 41,5; mediana 26,5) e submetidos a exames periódicos de LCR, em função de sintomatologia clínica.

Para cada amostra de LCR foram avaliadas as características que se seguem. Local da coleta; pressão; aspecto e cor; exame citológico (número de células por mm<sup>3</sup>; perfil citomológico, em percentagem, para preparados obtidos em câmara de sedimentação gravitacional acelerada ou por citocentrifugação); concentração (mg/dL) de proteínas totais, cloretos e glicose; perfil eletroforético das proteínas em percentagem; reações imunológicas. Estas abrangiam reação de floculação para sífilis; reações de fixação do comportamento (RFC) para sífilis e cisticercose; reações de imunofluorescência, hemaglutinação passiva e imunoenzimática para sífilis, cisticercose e toxoplasmose; RFC para tuberculose, candidíase, blastomicose, aspergilose e histoplasmose. Exame bacteriológico direto pelos métodos de Gram e de Ziehl-Nielsen; pesquisa de antígenos pela aglutinação do látex de *Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae* tipo b e *Neisseria meningitidis*. Culturas para bactérias e micobactérias. Exame micológico: direto pelo método de Weidman e Freeman (tinta da China) e de Moore; pesquisa de antígeno de *Cryptococcus neoformans* por aglutinação de látex; cultura em meio de Sabouraud.

As RFC para candidíase, aspergilose, blastomicose e histoplasmose foram efetuadas pelo método de Kolmer a 1/5. Os resultados foram expressos como reagentes (R), atraso da hemólise (ah) e não-reagentes (nr). Quando reagentes, as reações foram repetidas segundo técnica semi quantitativa expressando os resultados em unidades Kolmer. A identificação do agente etiológico em meio de cultura de Sabouraud foi realizada no LIM-52 FMUSP (Serviços do Prof. Carlos da Silva Lacaz).

Todos os exames das 113 amostras de LCR foram efetuados segundo as técnicas adotadas no Centro de Investigações em Neurologia e no Laboratório de Neurodiagnóstico, por uma só equipe de trabalho neste período de 12 anos.

#### RESULTADOS

Todos os exames de LCR dos 8 pacientes estudados apresentavam, por ocasião do diagnóstico, síndrome do LCR de meningoencefalite subaguda ou crônica sem etiologia definida.

As estimativas (média, mediana, desvio padrão e valores mínimos e máximos observados) para essa ocasião do número de células/mm<sup>3</sup>, perfil citomorfológico, concentrações de proteínas totais e de glicose e teor de globulinas gama encontram-se na Tabela 2. Os exames bacteriológicos e micológicos diretos foram negativos em todos os pacientes. Em apenas 1 caso houve crescimento de levedura em meio de Sabouraud, identificada como *Histoplasma capsulatum* por ocasião do diagnóstico. Neste mesmo paciente foi observado o crescimento de *Histoplasma capsulatum* em cultura em mais 2 amostras de LCR, 4 anos após o diagnóstico inicial. Neste caso a RFC para histoplasma foi reagente.

Tabela 1. Histoplasmose do SNC: identificação dos casos estudados e características gerais do LCR por ocasião do diagnóstico.

Caso	Identificação						LCR						
	Nome	Registro LSF	Data	Sexo	Idade anos	Cor	Cels /mm <sup>3</sup>	N %	E %	Prot mg/dL	Glic	Gama %	Histopl RFC
1	MSC	77731	24-08-83	M	26	B	73	53	4	773	13	34	R(1/16)
2	MVP	85759	27-04-82	M	27	B	60	32	0	750	23	27	R
3	GC	95236	21-01-86	M	52	B	180	17	0	820	31	30	R(1/1)
4	DM	118:25	17-07-88	F	28	B	250	1	0	117	18		*
5	MJFF	133438	15-04-91	M	12	B	160	11	2	78	31	10	R(1/1)
6	AS	134016	16-12-91	M	22	B	62	7	2	150	10	33	R(1/1)
7	RAO	136278	23-10-91	M	15	B	210	0	8	400	2	17	R(1/2)
8	SCPV	137338	14-01-92	F	32	B	35	4	0	290	38	31	R(1/32)

M, masculino; F, feminino; Cels, células; N, neutrófilos; E, eosinófilos; Prot, proteínas; Glic, glicose; Gama, globulinas gama; Histopl, *H. capsulatum*; RFC, reação de fixação do complemento; R, reagente (até a diluição de); \* crescimento do *H. capsulatum* em cultura em meio de Sabouraud.

Tabela 2. Características gerais do LCR de 8 pacientes com histoplasmose do SNC por ocasião do diagnóstico.

	Média	Mediana	Desvio Padrão	m	M
Células/mm <sup>3</sup>	128,8	116,5	81,05	35	250
Citomorfolgia:					
L+RM	82,4	89,0	18,55	43	99
N	15,6	9,0	18,35	0	53
E	2,0	1,0	2,83	0	8
Proteínas totais	423,0	345,0	314,52	78	820
Glicose	20,8	20,5	12,23	2	38
Globulinas gama	26,3	30,0	8,91	10,5	34,0

Perfil citomorfológico % (L, linfócitos; RM, reticulomonócitos; N, neutrófilos; E, eosinófilos); concentrações de proteínas totais, cloretos e glicose em mg/dL; teor de globulinas gama em %; m, mínimo; M, máximo.

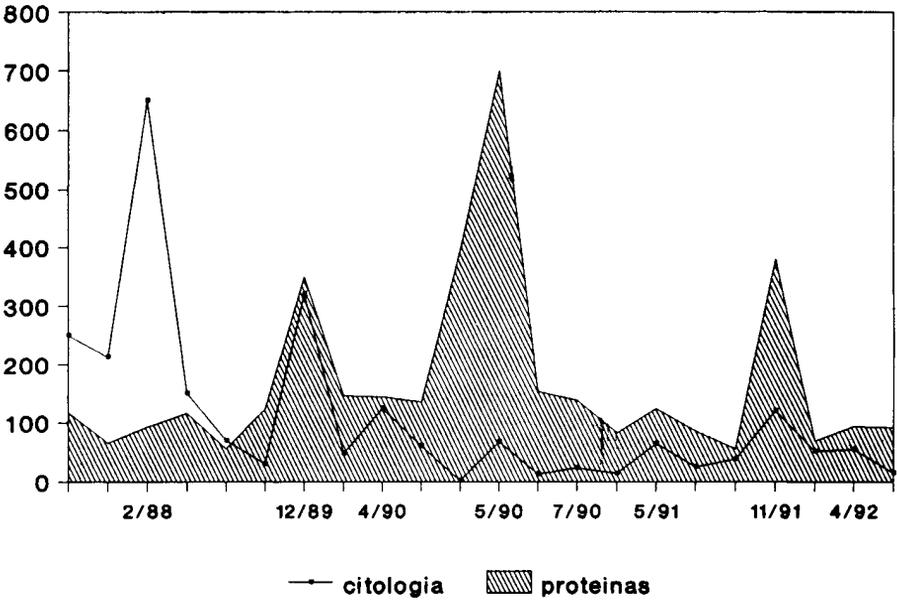


Fig. 1. Histoplasmose do SNC: citologia global e proteínas totais (Caso 4).

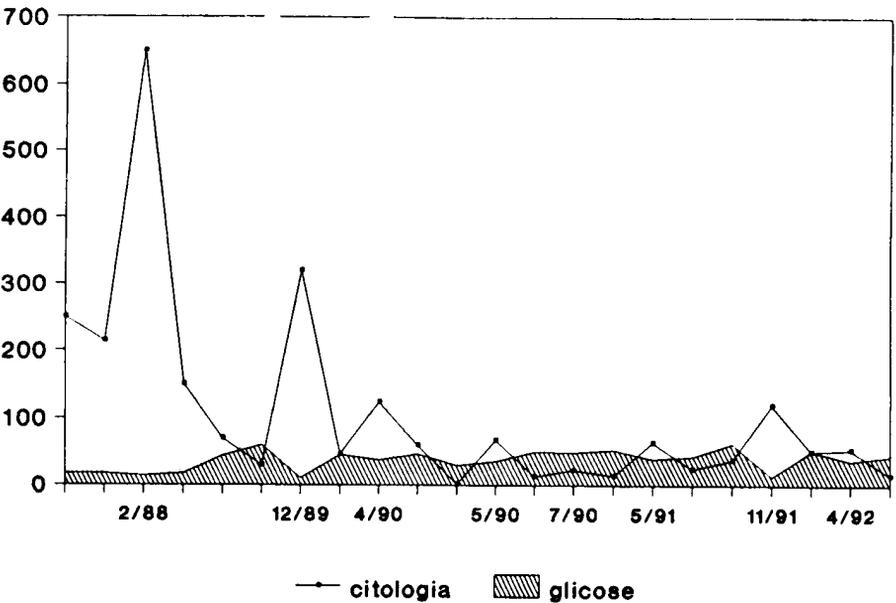


Fig. 2. Histoplasmose do SNC: citologia global e glicose (Caso 4).

O diagnóstico de segurança de histoplasmose do SNC foi dado pela positividade da RFC para histoplasma nos outros 7 pacientes estudados. Os títulos desta reação apresentaram variação de 1 a 32 unidades Kolmer. Em 2 casos houve aparecimento de reações cruzadas: um para tuberculose e outro para blastomicose. Ambos, no entanto, apresentavam títulos mais elevados para histoplasmose. Em exames realizados na evolução destes 2 pacientes somente permaneceu reagente a RFC para histoplasmose. Nos 6 casos restantes as demais reações (tuberculose, blastomicose, aspergilose, candidíase e criptococose) foram não reagentes.

Exemplificam-se o comportamento do dual citoproteico e da glicose em paciente acompanhado por período de 4 anos, caso que apresentou diagnóstico de certeza pelo crescimento em cultura de *Histoplasma capsulatum* (Figs 1 e 2). O número de células e a concentração de proteínas totais apresentam evolução caracterizada pela ocorrência de nítidos episódios de exacerbação com perfil parcialmente dissociado; esta dissociação favorece a concentração proteica e tende a acentuar-se à medida em que se cronifica a doença. As taxas de glicose apresentam-se moderadamente baixas e os menores valores são coincidentes aos períodos de exacerbação do número de células. Os teores de globulinas gama apresentam oscilações menos evidentes, com aumentos moderados e frequente distribuição oligoclonal.

Submetidos a tratamento com medicação eficaz (fungicidas/fungostáticos) durante período adequado ocorre no LCR dos pacientes: rápida diminuição do número de células e dos valores percentuais de neutrófilos, bem como aumento das taxas de glicose; as concentrações de proteínas totais e os teores de globulinas gama diminuem de modo menos pronunciado. Ao longo da evolução, a RFC para histoplasma permanece reagente, com pequena variação nos títulos.

#### COMENTARIOS

As síndromes clínica e do LCR em meningites subagudas ou crônicas apresenta características comuns a vários agentes etiológicos. Os pacientes apresentam cefaléia de duração prolongada e persistente, febre e rigidez de nuca, frequentemente associadas a sinais de encefalite como confusão, desorientação e letargia. O LCR apresenta pleocitose usualmente moderada, aumento da concentração de proteínas totais e diminuição da concentração de glicose. Essas alterações do LCR costumam ocorrer na ausência de identificação direta do agente etiológico. Alguns autores enfatizam que, quando esses sinais e sintomas associados às anormalidades do LCR permanecem por período maior que 4 semanas, caracteriza-se a ocorrência de meningoencefalite crônica<sup>16</sup>. Dos agentes etiológicos infecciosos mais frequentes que determinam esta síndrome salientam-se: *Mycobacterium tuberculosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Treponema pallidum*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum*, *Cysticercus cellulosae* e *Borrelia burgdorferi*. O exame do LCR continua a ser na atualidade o principal meio de elucidação diagnóstica para tais afecções. A importância da realização de pesquisa de toda essa gama de agentes etiológicos, de maneira sistemática e em várias amostras sucessivas de LCR, deve ser enfatizada. Existem algoritmos para tentativas de elucidação diagnóstica, todos baseados em achados do LCR, sobretudo levando em consideração a intensidade da pleocitose, o predomínio de células linfomononucleares ou de polinucleares neutrófilos, presença de células eosinófilas e a glicorraquia<sup>16</sup>.

A histoplasmose do SNC, que se caracteriza por quadro de meningoencefalite crônica, está incluída nas síndromes inflamatórias subagudas ou crônicas do LCR que apresentam pleocitose moderada com predomínio de células linfomononucleadas porém com presença de neutrófilos e frequentemente de eosinófilos, hiperproteínoorraquia moderada, hipoglicorraquia e aumento do teor de globulinas gama. Por vezes estas apresentam distribuição oligoclonal<sup>3</sup>. Todos os 8 casos estudados apresentavam essas características por ocasião do diagnóstico (Tabela 2).

O diagnóstico de certeza é dado pelo isolamento da levedura em meio apropriado. Nesta série de pacientes, em apenas 1 houve crescimento de *Histoplasma capsulatum* em cultura em 3 diferentes ocasiões: por ocasião do diagnóstico e 4 anos após, mesmo tendo este paciente recebido medicação específica. Este dado está de acordo com a literatura: é pequeno o número de casos em que se evidencia o crescimento do *Histoplasma capsulatum* em meios de cultura, podendo esse número atingir até 56% em algumas séries de casos<sup>16</sup>. O diagnóstico de segurança da afecção pode ser feito pelas reações imunológicas seja por

pesquisa de anticorpos, seja de antígenos<sup>12,18,19,21</sup>. As reações imunológicas para pesquisa de anticorpos a *Histoplasma capsulatum*, por fixação do complemento, contraímunoeletroforese ou radioimunoensaio (RIE), podem frequentemente apresentar reações cruzadas ou falso positivas, pois os vários determinantes antigênicos dos fungos são em geral semelhantes<sup>12,13,15,20,21</sup>. No entanto, segundo Wheat e col. a pesquisa realizada por RIE é altamente específica da afecção, seja ela feita na urina, soro ou LCR<sup>18,21</sup>.

Em nosso meio, não se contando ainda com essa nova técnica, foi realizada pesquisa de anticorpos a histoplasma apenas por fixação do complemento. Dos 8 casos analisados todos apresentaram títulos de anticorpos a histoplasma no LCR. O diagnóstico de segurança foi alcançado pelo conjunto de reações pesquisadas de maneira concomitante e em várias amostras sucessivas. Nestas, em apenas 2 ocasiões, em 2 casos diferentes, houve reações cruzadas com tuberculose e blastomicose. Todas as outras amostras analisadas apresentaram somente positividade para a reação de histoplasmosse. A histoplasmosse do SNC é doença de longa evolução mesmo quando submetida a medicação eficaz<sup>1,2,4</sup>. Pode haver períodos de escape do tratamento, que se traduzem no LCR por surtos de exacerbação da síndrome anteriormente observada. Nas figuras 1 e 2 exemplifica-se este comportamento quanto ao número total de células, da proteinorraquia e da glicorraquia. A medida em que se cronifica a doença esta dissociação parcial proteino-citológica tende a acentuar-se. As modificações do LCR após tratamento com medicação eficaz (fungida/fungostática) será objeto de outra publicação.

Conclui-se que, em nosso meio, no exame de LCR para meningites crônicas, as várias etiologias possíveis devem sempre ser pesquisadas de maneira sistematizada e em várias amostras sucessivas. As reações para tuberculose e fungos devem sempre participar dessa sistematização. Só assim pode-se alcançar o diagnóstico de segurança desejado.

**Agradecimento** — Os autores agradecem ao Prof. Dr. Carlos da Silva Lacaz (Laboratório de Micologia, LIM 52, FMUSP) pela gentil assistência para identificação de fungos em culturas, no decorrer destes anos e pelo fornecimento dos antígenos para identificação dos fungos estudados.

#### REFERÊNCIAS

1. Bellim EL, Silva M, Lawyer T Jr. Central nervous system histoplasmosis in a Puerto Rican. *Neurology* 1962, 12:148-152.
2. Cooper RA, Goldstein E. Histoplasmosis of the central nervous system: report of two cases and review of the literature. *Am J Med* 1963, 35:45-57.
3. Fishman RA. Cerebrospinal fluid in diseases of the central nervous system. Ed 2. Philadelphia: Saunders, 1992, p 276-277.
4. Gelfand JA, Bennet JE. Active histoplasma meningitis of 22 years duration. *JAMA* 1975, 233:1294-1295.
5. Gilden DH, Miller EM, Johnson WG. Central nervous system histoplasmosis after rhinoplasty. *Neurology* 1974, 24:874-877.
6. Greer D, Geraci JE, Corbin JB, Miller RH, Weed LA. Disseminated histoplasmosis presenting as a brain tumor and treated with amphotericin B: report of a case. *Mayo Clin Proc* 1964, 39:490-494.
7. Huang CT, McGarry T, Cooper S. Disseminated histoplasmosis in the immunodeficiency syndrome: report of five cases from a nonendemic area. *Arch Intern Med* 1987, 147:1181-1184.
8. Jardim E, Takayanagui OM. Mielopatia por histoplasmosse. *Arq Neuro-Psiquiatr (São Paulo)* 1981, 39:115-118.
9. Johnson PC, Sarosi GA. AIDS and progressive disseminated histoplasmosis. *JAMA* 1987, 258:202.
10. Karalukulasingam R, Arora KK, Adams G, Serratori F, Martin DG. Meningoencephalitis caused by *Histoplasma capsulatum*: occurrence in a renal transplant recipient and a review of the literature. *Arch Intern Med* 1976, 136:217-220.
11. Livramento JA, Machado LR, Nobrega JPS, Gomes HR, Vianna LS, Spina-França A. CSF in 85 patients with AIDS and CNS cryptococcosis. *Arq Neuro-Psiquiatr (São Paulo)* 1992, 50:491-496.

12. Plouffe JF, Fass RJ. Histoplasma meningitis: diagnostic value of cerebrospinal fluid serology. *Ann Intern Med* 1980, 92:189-191.
13. Sathapatayavongs B, Batteiger BE, Wheat LJ, Slama TG, Wass JL. Clinical and laboratory features of disseminated histoplasmosis during two large urban outbreaks. *Medicine* 1983, 62:263-270.
14. Smith JW, Utz JP. Progressive disseminated histoplasmosis. *Ann Intern Med* 1972, 76: 557-565.
15. Terry BS, Rosenow EC III, Roberts GD. False-positive complement fixation serology in histoplasmosis: a retrospective study. *JAMA* 1978, 239:2453-2456.
16. Tucker T, Ellner JJ. Chronic meningitis. In Scheld WM, Whitley RJ, Durack DT (eds): *Infections of the central nervous system*, New York: Raven Press, 1991, p 703-728.
17. Wheat LJ, Batteiger BE, Sathapatayavongs B. **Histoplasma capsulatum** infection of the central nervous system. a clinical review. *Medicine* 1990, 69:2444-2460.
18. Wheat LJ, Connolly-Stringfield P, Kohler RB, Frame PT, Gupta MR. **Histoplasma capsulatum** polysaccharide antigen detection in diagnosis and management of disseminated histoplasmosis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med* 1989, 87:396-400.
19. Wheat LJ, French MLV, Batteiger BE, Kohler RB. Cerebrospinal fluid histoplasma antibodies in central nervous histoplasmosis. *Arch Intern Med* 1985, 145:1237-1240.
21. Wheat LJ, Kohler RB, Tewari RP, Garten M, French MLV. Significance of histoplasma antigen in the cerebrospinal fluid of patients with meningitis. *Arch Intern Med* 1989, 149:302-304.