

Cryptococcus neoformans isolados de pacientes com AIDS

Cryptococcus neoformans in patients with AIDS

Orionalda de F.L. Fernandes, Théo R. Costa, Márcio R. Costa,
Ailton J. Soares, Ana J.S.C. Pereira e Maria do Rosário R. Silva

Resumo Criptococose é considerada a infecção fúngica sistêmica oportunista mais comum em pacientes com AIDS. Nestes pacientes tem predominado como agente etiológico *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, e muito raramente relata-se *C. neoformans* var. *gattii*, mesmo nas regiões onde se verifica a sua prevalência. Foram estudados 50 pacientes com lesões de criptococose meningoencefálica associada com AIDS. Os isolados foram identificados através de características microscópicas e macroscópicas exibidas em meios de ágar Sabouraud, ágar niger e Christensen. As variedades de *C. neoformans* foram determinadas pela reação de coloração obtida em meio de L-canavanina glicina-azul de bromotimol (CGB). Em todos os pacientes examinados foram isolados *C. neoformans*, sendo identificados *C. neoformans* var. *neoformans* em 47 isolados e *C. neoformans* var. *gattii* em 3. Os resultados encontrados mostram que a criptococose em pacientes com AIDS pode também ser causada por *C. neoformans* var. *gattii*, apesar de haver predominância de *C. neoformans* var. *neoformans* nesta população.

Palavras-chaves: Criptococose. *Cryptococcus neoformans*. AIDS.

Abstract Cryptococcosis is considered the most frequent fungal systemic opportunist infection in patients with AIDS. *C. neoformans* var. *neoformans* infects the patients with AIDS more often than *C. neoformans* var. *gattii* which has been rarely isolated from patients with AIDS. Even in endemic regions of *C. neoformans* var. *gattii*, the variety of *neoformans* is still the most common agent diagnosed in cryptococcosis of patients with AIDS. Cerebrospinal fluid (CSF) from fifty patients with neurocryptococcosis associated with AIDS were studied. The fungi were isolated in agar Sabouraud medium, and were identified by microscopic and macroscopic examination by agar Sabouraud, agar niger and Christensen's urea medium. The variety was determined based on a color characteristic reaction on glycine-L-canavanina-bromothymol blue agar. From all of the fifty patients' cerebrospinal fluid (CSF) we were able to recover *C. neoformans*. The isolates were identified as *C. neoformans* var. *neoformans* in 47 patients and as *C. neoformans* var. *gattii* in the 3 remaining patients. These findings suggest that both varieties, *gattii* and *neoformans*, are agents of neurocryptococcosis in patients with AIDS.

Key-words: Cryptococcosis. *Cryptococcus neoformans*. AIDS

Infecções fúngicas oportunistas são observadas com grande frequência em indivíduos imunocomprometidos. Criptococose causada por *Cryptococcus neoformans* vem assumindo papel relevante por ser considerada uma das micoses mais comuns nos pacientes com síndrome da

imunodeficiência humana adquirida (SIDA) produzindo lesões principalmente no sistema nervoso central (SNC), em particular as meninges^{1 3 14 19 20}.

A espécie *C. neoformans* possui duas variedades, *gattii* e *neoformans* que apresentam

Departamento de Microbiologia Imunologia Parasitologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública do Hospital de Doenças Tropicais de Goiânia (HDT) da Universidade Federal de Goiás.

Endereço para correspondência: Profª Orionalda de Fátima L. Fernandes. Rua 6 nº 664, Aptº 702, Setor Oeste, 74115-070 Goiânia, GO.

Fax: 55 62 215-2057.

Recebido para publicação em 19/10/98.

os sorotipos B-C e A-D respectivamente, de acordo com a especificidade antigênica do polissacarídeo capsular. Estudos epidemiológicos têm demonstrado diferenças na distribuição geográfica destas variedades¹⁰. Em pacientes com AIDS, *C. neoformans var. neoformans* tem sido isolado na maioria dos casos diagnosticados de criptococose, mesmo em áreas de clima

tropical e subtropical, onde *C. neoformans var. gattii* é relativamente comum^{2 11}.

O presente trabalho tem como principal objetivo verificar a etiologia da criptococose e a variedade predominante nos pacientes com AIDS atendidos no Hospital de Doenças Tropicais de Goiânia, GO, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de líquido céfalo raquidiano (LCR) de 50 pacientes com AIDS provenientes do Hospital de Doenças Tropicais de Goiânia (HDT) manifestando dor de cabeça, vômito e ocasionalmente febre, sugestivos de criptococose meningo encefálica. As amostras foram submetidas a exame direto com tinta nanquim e cultivados em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol a temperatura ambiente e a 37°C para pesquisa e isolamento dos fungos.

Colônias sugestivas de *C. neoformans* foram repicadas em meios de ágar cenoura batata e ágar niger que contém substratos fenólicos para detectar a atividade da fenol-oxidase, e meio de Christensen para determinar a assimilação da uréia.

As variedades foram determinadas baseando-se nas características das cores no meio de L-canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB) segundo Kwon-Chung¹¹.

RESULTADOS

Das 50 amostras de *Cryptococcus neoformans*, 47 (94%) foram identificadas como *C. neoformans var. neoformans* e 3 (6%) como *C. neoformans var. gattii*. Os pacientes estudados foram procedentes de diferentes estados do Brasil, sendo que 3 isolados de *C. neoformans var. gattii*

e 17 *C. neoformans var. neoformans* foram de pacientes habitantes do interior de Goiás, 23 isolados foram provenientes de pacientes de Goiânia e os 7 restantes pertencentes a indivíduos dos estados do Tocantins (1), Minas Gerais (2), Pará (3) e São Paulo (1) (Figura 1).

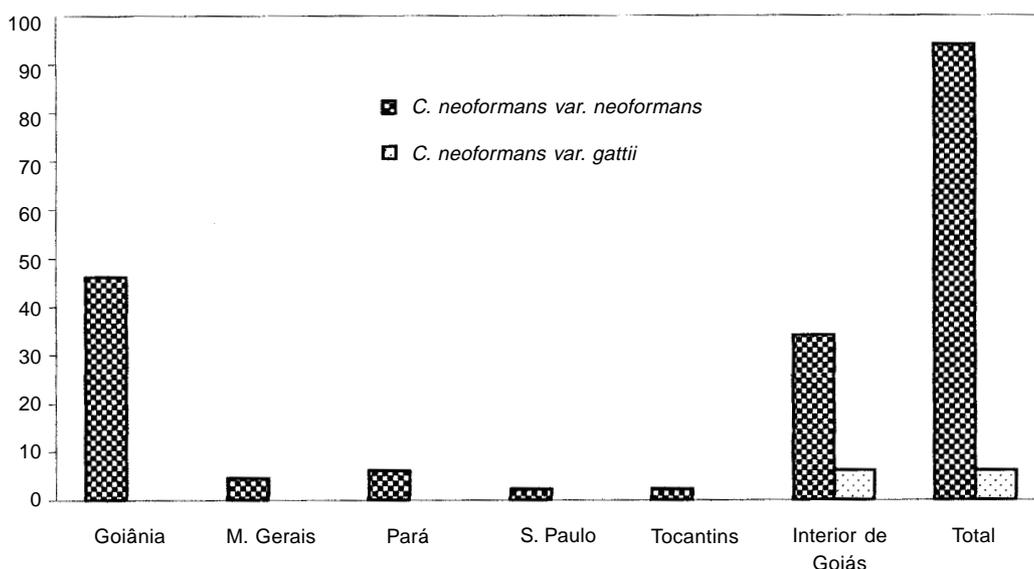


Figura 1 - Procedência regional dos casos de criptococose com seus agentes etiológicos.

A faixa etária dos pacientes estudados foi de 20 a 60 anos sendo que 56% possuíam entre 20 e 30 anos. Verificou-se predominância do sexo

masculino com 39 (78%) dos casos pertencentes a este sexo. A relação do sexo e idade nos casos de criptococose encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Casos de criptococose do sistema nervoso central de pacientes com AIDS relacionados com a idade e sexo.

Idade (anos)	Sexo				Total	
	M		F			
	nº	%	nº	%	nº	%
20-30	23	46	5	10	28	56
31-42	9	18	4	8	12	24
41-50	6	12	1	2	7	14
>50	1	2	1	2	2	4
Total	39	78	11	22	50	100

DISCUSSÃO

Todos os pacientes com criptococose estudados no nosso trabalho apresentavam-se com dor de cabeça, vômito e febre ocasionalmente, o que levou a pesquisa de *C. neoformans* no LCR. Esta manifestação clínica é freqüentemente observada em pacientes com AIDS que possuem meningite criptocócica^{15, 18}. Nos Estados Unidos, em 189 casos de criptococose estudados por Chandler et al⁵, foi verificada uma alta incidência de criptococose meníngea, onde este tipo clínico foi diagnosticado em 167 pacientes.

Os critérios de identificação do agente etiológico de criptococose utilizados em nosso estudo, permitiram mostrar um número elevado de isolados de *C. neoformans var. neoformans* (47/50), enquanto a *var. gattii* foi isolada em 3 casos. Esta diferenciação de variedades foi observada pelas características exibidas em ágar CGB. A identificação de *C. neoformans var. gattii* em 3 casos foi considerado de grande importância, visto que mesmo em regiões endêmicas de criptococose que possui como agente etiológico mais freqüente *C. neoformans var. gattii*, este agente tem sido raramente correlacionado com criptococose do SNC em portadores do vírus da imunodeficiência adquirida¹⁴. Estudos de vários pesquisadores têm mostrado que a criptococose nos pacientes com AIDS, é geralmente causada por *C. neoformans var. neoformans* independente da área geográfica de sua distribuição^{9, 16, 17}.

Tem sido postulado que a predominância de *C. neoformans var. neoformans* em pacientes com AIDS deve-se provavelmente à maior exposição dos indivíduos ao habitat natural deste fungo. Vários trabalhos têm demonstrado que

C. neoformans var. neoformans está correlacionado normalmente a excrementos de fezes de pombos e aves, enquanto *C. neoformans var. gattii* encontra-se associado a árvores de eucaliptos como *Eucalyptus camaldulensis* e *E. tereticornis*^{7, 8}. No entanto, em estudos mais recentes têm sido observada a presença de *C. neoformans* nestas fontes naturais, assim como também em ocas de diferentes árvores (*Cassia grandis*, *Senna multijuga*, *Ficus microcarpa*) independente de sua variedade. Segundo estes pesquisadores não existe um relacionamento definido entre o fungo e um tipo específico de habitat^{3, 12, 13}.

A criptococose foi observada em 78% dos casos no homem, revelando predominância do sexo masculino sobre o feminino. Duppont et al⁶ sugerem que pacientes do sexo masculino com AIDS apresentam maior risco à criptococose do que os do sexo feminino. Prevalência do sexo masculino também foi citado por Mitchell et al¹⁴ os quais observaram em seu estudo que 80% dos casos de criptococose do SNC pertenciam a este sexo.

Os pacientes estudados em nosso trabalho possuíam de 20 a 60 anos, sendo que 56% dos casos apresentavam-se entre 20 e 30 anos. Criptococose em criança com AIDS é menos freqüente, sendo raramente observado. Pinner et al¹⁵ relatam 1% de casos de criptococose em crianças com AIDS.

Os dados encontrados, abrem uma interessante perspectiva sobre a ecologia do *Cryptococcus neoformans* e sobre a epidemiologia da criptococose, merecendo o prosseguimento de estudos sobre estes temas em pacientes com AIDS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ansheng L, Nishimura K, Tagushi H, Tanaka R. The isolation of *Cryptococcus neoformans* from pigeon dropping and serotyping of naturally and clinically sourced isolates in China. *Mycopathologia* 124:1-5, 1993
2. Bava AJ, Negroni R. Características epidemiológicas de 105 casos de criptococose diagnosticados em la Repúbliuca Argentina entre 1981-1990. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 34:335-340, 1992.
3. Bauwens L, Swinne D, De Vroey C, De Meurich W. Isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* in the aviaries of the Antwerp Zoological Garden. *Mycosen* 29:291-294, 1986.
4. Caiuby J, Rozembaum R, Feijó P, Carvalho A, Peixoto CA, Assis TL, Vohns C, Nogueira AS, Rios-Gonçalves AJ, Associação de criptococose e histoplasmoses em pacientes portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida. Relato de três casos. *Arquivo Brasileiro de Medicina* 63:443-445, 1989
5. Chandler FW. Pathology of the mycoses in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). In: McGinnis MR (ed) *Current topics in medical mycology*. Springer-Verlag, New York, p.1-23, 1985.
6. Dupont B, Graybill JR, Armstrong D, Laroche R, Touzé JE, Wheat LJ. Fungal Infections in AIDS Patients. *Journal of Medical and Veterinary Mycology* 30:19-28, 1992.
7. Ellis DH, Pfeiffer TJ. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. *Journal Clinical Microbiology* 28:1642-1644, 1990.
8. Emmons CW. Saprophytic source of *Cryptococcus neoformans* associated with the pigeon (*Columbia livia*). *American Journal of Hygiene* 62:227-232, 1955.
9. Kovacs JÁ, Kovacs AA, Polis M. Criptococose in the acquired immunodeficiency syndrome. *Annals Internal Medicine* 103:533-538, 1985.
10. Kwon-Chung KJ, Bennet JE. Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. *American Journal Epidemiology* 120:123-130, 1984.
11. Kwon-Chung KJ, Polachek I, Bennet JE. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotype B and C). *Journal Clinical Microbiology* 115:535-537, 1982.
12. Lazéra MS, Pires FDA, Camillo-Coura L, Nishikawa MM, Bezerra CCf, Trilles L, Wanke B. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* in decaying wood forming hollows in living trees. *Journal of Medical Veterinary and Mycology* 34:127-131, 1996.
13. Lazéra MS, Cavalcante MAS, Nishikawa MM, Wanke B. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* evidence for a natural habitat related to decaying wood in pottery tree hollow. *Medical Mycology* 36:119-122, 1998.
14. Mitchell DH, Sorrell TC, Allworth AM, Heath HC, McGregor AR, Papanoum K, Richards MJ, Gottlieb T. Criptococcal disease of the CNS in immunocompetent hosts: influence of criptococcal variety on clinical manifestations and outcome. *Clinical Infectious Diseases* 20:611-616, 1995.
15. Pinner RW, Hajjeh RA, Powderly WG. Prospects for preventing cryptococcosis in persons infected with human immunodeficiency virus. *Clinical Infectious Diseases* 21:103-107, 1995.
16. Rinaldi MG, Drutz DJ, Howell A, Sande MA, Wofsy CB, Hadley, WK. Serotypes of *C. neoformans* in patients with AIDS. *Journal Infectious Diseases* 153:642, 1986.
17. Rozembaum R, Rios Gonçalves AJ, Wanke B, Caiuby MJ, Clemente H, Lazera MS, Monteiro PC, Londero AT. *Cryptococcus neoformans* varieties as agents of criptococose in Brazil *Arquivo Brasileiro de Medicina* 66:261-263, 1992.
18. Sugar AM. Overview: cryptococcosis in the patients with AIDS. *Mycopathologia* 114:153-157, 1991.
19. Taborda A, Negroni R, Arechavela A, Robles AM. Criptococose asociada al SIDA. Estudio retrospectivo de tres terapéuticas antifúngicas en 43 casos. *Revista Iberoamericana de Micología* 10:10-13, 1993.
20. Zerpa R, Huicho L, Guillén A. Modified india ink preparation for *Cryptococcus neoformans* in cerebrospinal fluid specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 34:2290-2291, 1996.