

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

ELISÂNGELA FREITAS MENDONÇA

**IMPACTO DA CRIPTOCOCOSE NA RECUPERAÇÃO IMUNOLÓGICA DE
PACIENTES COM AIDS E IMUNOSSUPRESSÃO GRAVE**

CAMPO GRANDE-MS

2022

ELISÂNGELA FREITAS MENDONÇA

**IMPACTO DA CRIPTOCOCOSE NA RECUPERAÇÃO IMUNOLÓGICA DE
PACIENTES COM AIDS E IMUNOSSUPRESSÃO GRAVE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.a Dra. Anamaria Mello Miranda Paniago

CAMPO GRANDE-MS

2022

ELISÂNGELA FREITAS MENDONÇA

**IMPACTO DA CRIPTOCOCOSE NA RECUPERAÇÃO IMUNOLÓGICA DE
PACIENTES COM AIDS E IMUNOSSUPRESSÃO GRAVE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovado em: _____ de _____ de 202____.

BANCA EXAMINADORA

Examinador – Instituição

Examinador – Instituição

Examinador – Instituição

Dedicatória

À minha mãe, D. Alides, que sempre incentivou o conhecimento, mesmo não estando presente nesse plano, de alguma forma, se faz presente.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos em primeiro lugar vão para minha orientadora Prof^a. Dr^aAnamaria Mello Miranda Paniago, pela sua dedicação e carinho por nós seus orientados, com ela aprendo sempre a cada dia.

Grata à aluna de doutorado Eliana Costa Alvarenga que me ajudou nas análises e em inúmeras outras pequenas coisas.

Adriana Negri, cujo projeto original deu origem a este.

Grata a toda a equipe que me ajudou nessa empreitada.

Grata ao diretor do LACEN, Luiz Henrique Ferraz de Marchi, grande incentivador para a equipe LACEN.

Grata à Secretaria Estadual de Saúde de Mato Grosso do Sul

Sinceros agradecimentos ao Programa de Pós-graduação de Doenças Infecto-Parasitárias- DIP da UFMS.

Especial agradecimento à minha família, pelo bem e pelo mal, está sempre comigo.

“O conhecimento é um copo que nunca enche.

Sábio é aquele que permanece tentando”

Thales de Oliveira Gomes

RESUMO

A criptococose é uma micose sistêmica oportunística com elevada letalidade e que ocorre em condições de imunossupressão, incluindo infecção pelo HIV/aids. A recuperação imunológica obtida com a terapia antirretroviral (TARV) é a forma mais efetiva no controle das infecções oportunísticas na aids. Baseado em observação na prática clínica e considerando que *Cryptococcus* spp acelera a replicação do HIV *in vitro*, nós hipotetizamos que a criptococose retarda ou impede a recuperação imunológica de pacientes com aids e imunossupressão grave. O objetivo do estudo foi analisar se há associação entre a presença de criptococose e a recuperação imunológica de pacientes com aids e imunossupressão grave num seguimento de até 5 anos. Os participantes foram selecionados de uma população de 230 pacientes com aids e contagem de CD4+ ≤ 200 células/mm³, que foram submetidos à investigação sistemática de criptococose. Aqueles que foram acompanhados por mais do que 100 dias foram elegíveis para este estudo de coorte. Assim, o grupo exposto à criptococose foi composto por 21 pacientes e um grupo não exposto foi selecionado aleatoriamente por sorteio e pareado por faixa de células CD4+, na proporção 3 não-exposto para 1 exposto, com 67 participantes. O desfecho recuperação imune foi definido como contagem de CD4+ de 350 células ou mais. As análises estatísticas utilizadas foram o qui-quadrado ou prova exata de Fisher para comparar variáveis categóricas e o teste U de Mann Whitney para variáveis contínuas. Análise multivariada por regressão logística foi usada para avaliar variáveis independentemente associadas à recuperação imunológica. A curva de Kaplan Meier, analisada pelo log rank, foi utilizada para o tempo de recuperação imune. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo e de 0,05 a 0,10 como tendência. Ambos os grupos apresentavam características basais similares, exceto pelo fato de que os expostos à criptococose tinham uma proporção menor de neurotoxoplasmose. Uma tendência de menor taxa de recuperação imunológica foi observada no grupo com criptococose (19,0% vs 38,8%, $p = 0,096$). Os outros desfechos estudados, tais como razão células CD4+ final/ inicial, diferença entre CD4 final e inicial e tempo para atingir a recuperação imunológica não diferiram entre os grupos. Na análise multivariada foi possível observar que idade menor de 40 anos, carga viral do HIV indetectável no seguimento e maior tempo de acompanhamento foram variáveis independentemente associadas à recuperação imunológica. Pacientes com criptococose apresentaram 3,61 (IC 95% 0,90-14,53; $p = 0,071$) vezes mais chance de falha na recuperação imunológica do que os pacientes sem persistindo a tendência à significância estatística. Os resultados encontrados apontam para a possibilidade da criptococose ser um fator associado a menores taxas de recuperação imunológica na aids e imunossupressão grave, o que poderá ser elucidado com estudos que envolvam um número maior de pacientes.

Palavras-chave: Criptococose. Aids. Contagem de CD4+. Recuperação imunológica.

ABSTRACT

Cryptococcosis is an opportunistic systemic mycosis in AIDS, it has high lethality and occurs in immunosuppressed conditions, including HIV/AIDS. The immune recovery obtained with highly active antiviral therapy (HAART) is the most effective way to control opportunistic infections in AIDS. Based on observation in clinical practice and considering some evidences that *Cryptococcus* spp accelerates the replication of the HIV in vitro, we hypothesized that cryptococcosis delays or prevents the immune recovery of AIDS patients with severe immunosuppression. The aim of this study was to analyze whether there is an association between the presence of cryptococcosis and the immune recovery of patients with AIDS and severe immunosuppression in a follow-up of up to 5 years. Participants were selected from a population of 230 consecutive AIDS patients with a CD4+ count ≤ 200 cells/mm³ who underwent systematic investigation of cryptococcosis. Those who were followed up for more than 100 days were eligible for this paired cohort study. Thus, the group exposed to cryptococcosis consisted of 21 patients, and an unexposed group was randomly selected and matched by CD4+ cell range, in a ratio of 3 unexposed to 1 exposed, with 67 participants. The immune recovery outcome was defined as a CD4+ count of 350 cells or more. The statistical analyzes used were the chi² or Fisher's exact test to compare categorical variables and the Mann Whitney U test for continuous variables. Multivariate logistic regression analysis was used to assess variables independently associated with immune recovery. The Kaplan Meier curve, analyzed by Log Rank, was used for immune recovery time. A p value < 0.05 was considered significant and from 0.05 to 0.10 as trend. Both groups had similar baseline characteristics, except that those exposed to cryptococcosis had a lower proportion of neurotoxoplasmosis. A trend towards a lower immune recovery rate was observed in the cryptococcosis group (19.0% vs 38.8%, $p=0.096$). The other outcomes studied, such as final/initial CD4+ ratio, difference between final and initial CD4+ and time to achieve immune recovery did not differ between groups. In the multivariate analysis, it was possible to observe that age lower than 40 years, undetectable HIV viral load at follow-up and longer follow-up were variables independently associated with immune recovery. Patients with cryptococcosis had 3.61 (95% Confidence Interval 0.90-14.53; $p=0.071$) folds more chance of failure in immune recovery than patients without cryptococcosis, still tending to statistical significance. The results found point to the possibility that cryptococcosis is a factor associated with lower rates of immune recovery in AIDS and severe immunosuppression, which can be elucidated with studies involving a greater number of patients.

Keywords: Cryptococcosis. Aids. CD4+ Count. Immune Recovery.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Classificação das espécies, sorotipos e tipos moleculares de <i>Cryptococcus</i> spp conforme taxonomia	17
Figura 2 – Célula de <i>Cryptococcus</i> spp. secretando seus fatores de virulência	18
Figura 3 – Quadro com recomendações para tratamento da criptococose em pacientes adultos com infecção por HIV/aids.....	23
Figura 4 – Fluxograma dos participantes do estudo	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características demográficas e clínicas basais de pacientes com aids e imunossupressão grave com criptococose e um grupo sem criptococose pareado por nível de células CD4+. Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Campo Grande-MS, 2015 a 2017	34
Tabela 2 – Desfechos de pacientes com aids e imunossupressão grave com criptococose e um grupo sem criptococose pareado por nível de células CD4+ na inclusão do estudo. Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Campo Grande-MS, 2015 a 2017	35
Tabela 3 – Variáveis associadas a não atingir a recuperação imunológica em uma coorte de pacientes com aids e imunossupressão grave, com e sem criptococose, pareados por nível de células CD4+ na inclusão do estudo. Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossi	36

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDAS

AFLP	Amplified Length Polymorphism (Polimorfismo de comprimento amplificado).
AIH	Autorização de internação hospitalar.
ANFB	Anfotericina B.
CD4	Cluster differentiation 4
CGB	Meio de cultura canavanina glicina-azul de bromotimol.
CRAG	Antígeno criptocócico.
CV-	Carga viral.
DATASUS	Departamento de informática do SUS.
HAART	Highly Active Antiretroviral.
HIV	Vírus da imunodeficiência humana.
HUMAP	Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian.
ITRN	Inibidor da transcriptase reversa análogo a nucleosídeo.
ITRNN	Inibidor da transcriptase reversa não análogo a nucleosídeo.
IP	Inibidor da protease.
IF	Inibidor de fusão.
II	Inibidor da integrase.
IE	Inibidores de entrada.
IRIS	Síndrome inflamatória da reconstituição imune.
LCE	Líquido cérebro espinal.
LFA	Imunocromatografia de fluxo lateral.
MLST	Multi Locus Sequence Typing.
µL	Micro-litro.
PCR	Reação em cadeia da polimerase.
PIC	Pressão intracraniana.
PL	Punção lombar.
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição).
RNA	Ácido Ribonucleico.
SAE	Serviço de assistência especializada.
SNC	Sistema nervoso central.
SIH-SUS	Sistema de internações hospitalares do SUS.

SUS	Sistema único de saúde
UDIP	Unidade de doenças infecciosas.
TARV	Terapia antirretroviral.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRICO DA CRIPTOCOCOSE.....	16
2.2 AGENTE ETIOLÓGICO	16
2.3 PATOGENICIDADE.....	17
2.4 EPIDEMIOLOGIA	19
2.5 ASPECTOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS.....	20
2.6 DIAGNÓSTICO	21
2.7 TRATAMENTO	23
2.8 COINFEÇÃO CRIPTOCOCOSE E HIV/AIDS	25
2.8.1 Terapia antirretroviral.....	25
2.8.2 Recuperação imunológica após criptococose.....	27
3 OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4 METODOLOGIA	30
4.1 DESENHO, LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO	30
4.2 PARTICIPANTES DO ESTUDO	30
4.2.1 Etapa 1: triagem de criptococose.....	30
4.2.2 Etapa 2: composição dos grupos.....	30
4.3 VARIÁVEIS	31
4.4 DEFINIÇÃO DE TERMOS	32
4.5 ORGANIZAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS.....	32
4.6 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA	32
5 RESULTADOS	33
6 DISCUSSÃO	38
7 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS.....	42
APÊNDICE A	48

1 INTRODUÇÃO

A criptococose é uma micose sistêmica grave que ocorre mundialmente acometendo humanos e animais (HEADLEY *et al.*, 2019; KROCKENBERGER *et al.*, 2020). Os agentes etiológicos da criptococose são leveduras do gênero *Cryptococcus*. A infecção ocorre pela inalação de propágulos fúngicos presentes no ambiente. Quando inalado, esse fungo penetra no tecido pulmonar de onde pode se disseminar por via hematogênica para outros órgãos, com particular afinidade pelo sistema nervoso central (SNC) (MACDOUGALL; FIFE, 2006).

O desenvolvimento da doença depende tanto de fatores do hospedeiro, como sua resposta imunológica, quanto dos níveis de exposição ambiental ao patógeno e fatores de virulência da cepa infectante (BRUNI *et al.*, 2017). A principal manifestação clínica da criptococose e a mais letal é a meningoencefalite, que ocorre em cerca de 60 a 70% dos casos, sendo o principal agente causal, o complexo de espécies *Cryptococcus neoformans*, responsável por 95% dos casos de coinfeção criptococose/HIV/aids (RHODES *et al.*, 2017).

Cerca de 6 a 10% dos pacientes que desenvolvem aids, adquirem criptococose (RAJASINGHAM *et al.*, 2017; WILLIAMSON, 2017). A estimativa global da incidência de criptococose em pessoas vivendo com HIV/aids foi de 223.000 novos casos em 2014, resultando numa mortalidade de 181.000 pessoas, o que representou 15% das mortes relacionadas à aids (RAJASINGHAM *et al.*, 2017; WHO, 2018).

O tratamento da criptococose é complexo e a mortalidade em pacientes vivendo com HIV/aids ainda é muito elevada em países de baixa e média renda (DERBIE *et al.*, 2020). A recuperação imunológica após início da terapia antirretroviral (TARV) é o principal fator que contribui para o controle das doenças oportunistas, incluindo a criptococose (LORTHOLARY *et al.*, 2006).

Existem poucos estudos que acompanham pacientes com aids tratados de criptococose, e portanto, pouco se sabe o impacto dessa doença nessa população a longo prazo (BUTLER *et al.*, 2012), especialmente na recuperação imunológica após instituição da terapia antirretroviral (TARV). Nesse sentido, pretendeu-se avaliar a associação entre a criptococose e a recuperação imunológica durante o seguimento de até cinco anos, que foi realizado em uma coorte de pacientes com aids e imunossupressão grave e que foram sistematicamente investigados para criptococose.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DEFINIÇÃO E HISTÓRICO DA CRIPTOCOCOSE

A criptococose é uma micose sistêmica grave cosmopolita, que atinge principalmente pacientes imunodeprimidos (KROCKENBERGER *et al.*, 2020). Os agentes etiológicos da criptococose são as leveduras dos complexos *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gatii*. A infecção ocorre por inalação de propágulos fúngicos presentes no meio ambiente. Quando inalado, esse fungo penetra no tecido pulmonar de onde pode se disseminar para pele, ossos e gânglios linfáticos. No entanto, o fungo apresenta especial tropismo pelo sistema nervoso central (SNC), de modo que a meningoencefalite prevalece como a principal apresentação clínica (MACDOUGALL; FYFE, 2006; EL FANE *et al.*, 2015).

A levedura encapsulada foi encontrada pela primeira vez num suco de frutas na Itália por Sanfelice em 1894; no mesmo ano, na Alemanha, foi relatada pela primeira vez, a doença, por Busse e Buschke, denominada doença coccidia e foi isolada da tíbia de um paciente, mas somente em 1905 Von Hansseman descreveu o primeiro caso de meningite criptocócica, que desde muito tem levado pacientes a óbito. Em 1970, Baker e Haugen apresentaram dados de patologia e descreveram a rota de infecção primária pulmonar da criptococose com a hipótese da possível aerossolização dos propágulos fúngicos infectantes ambientais atingindo a árvore brônquica (PERFECT; CASADEVALL, 2002; SRIKANTA *et al.*, 2014). No Brasil, o Dr Carlos da Silva Lacaz e seu mestre, Dr Floriano de Almeida, foram os primeiros a descrever a doença em 1941 e 1944, respectivamente (PAPPALARDO; MELHEM, 2003).

2.2 AGENTE ETIOLÓGICO

Os fungos *Cryptococcus* spp são basidiomicetos com mais de 30 espécies distribuídas com ampla distribuição no meio ambiente, dentre as quais, duas apresentam relevância clínica à saúde humana, *C. neoformans* e *C. gatii* (MAZIARS; PERFECT, 2016; HAGEN *et al.*, 2017).

Segundo recente revisão, o complexo de *C. neoformans* seria composto por 2 espécies: *C. neoformans* e *C. deneoformans* e o complexo *C. gatii* seria composto por 5 espécies: *C. gatti stricto sensu*, *C. bacillisporus*, *C. deuterogetti*, *C. tetragatti* e *C. decagatti* (HAGEN *et al.*, 2017) (Figura 1).

Figura 1 – Classificação das espécies, sorotipos e tipos moleculares de *Cryptococcus* spp conforme taxonomia

	Espécie	Sorotipo	Tipo molecular	Híbridos
Complexo de espécies <i>C. neoformans</i>	<i>C. neoformans</i>	A	AFLP1/ VNI	
		A	AFLP1A/VNB/V NII	<i>C. neoformans</i> x <i>C. deneoformans</i>
	<i>C. deneoformans</i>	A	AFLP1B/VNII	(AD; AFLP3/VNIII)
		D	AFLP2/VNIV	
Complexo de espécies <i>C. gattii</i>	<i>C. gattii sensu stricto</i>	B	AFLP4/ VGI	<i>C. gattii</i> x
		C	AFLP5/ VNIV	<i>C. deneoformans</i> (BD; AFLP8)
	<i>C. deuterogattii</i>	B	AFLP6/ VGII	
	<i>C. tetragattii</i>	C	AFLP7/ VGIV	<i>C. gattii</i> x
	<i>C. decagattii</i>	B	AFLP10	<i>C. neoformans</i> (AB; AFLP9)

Fonte: Adaptado de Hagen *et al.*, 2017.

Alguns autores recomendam o uso da nomenclatura complexo de espécie *C. neoformans* e complexo de espécies *C. gattii*. A adoção da nomenclatura complexo de espécies reconhece a diversidade genética sem criar confusão, uma vez que a adoção da nomenclatura proposta poderia separar a taxonomia da prática clínica (KWON-CHUNG *et al.*, 2017).

Cryptococcus neoformans é cosmopolita e está presente em diversos substratos orgânicos, como madeira decomposta e excretas secas de pássaros e pombos, frequente em criadouros de aves e centros urbanos (MORETTI *et al.*, 2008). Ocasiona infecção principalmente em pacientes com imunodepressão celular. Nesse sentido, a criptococose causada pelo *C. neoformans* é a micose sistêmica mais frequente em indivíduos com infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV/aids) (KWON-CHUNG *et al.*, 2017).

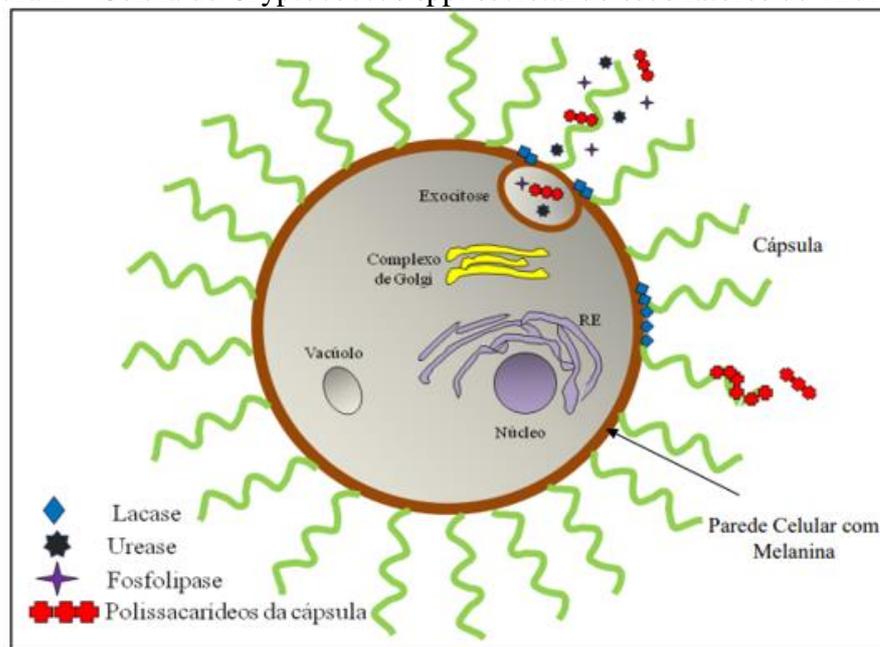
Cryptococcus gattii era tido como restrito à zona tropical, porém devido a surtos de criptococose ocorridos em áreas de clima frio, como Vancouver, alguns estudos sugerem que a espécie pode se adaptar a novos ambientes e ter sua ecologia ampliada (TRILLES *et al.*, 2008). É considerado um patógeno primário em indivíduos imunocompetentes (GASSIEP *et al.*, 2018).

2.3 PATOGENICIDADE

A interação parasita-hospedeiro na criptococose determina o adoecimento e a gravidade da doença. A infecção ocorre por inalação de leveduras que alcançam os alvéolos pulmonares, onde induzem uma resposta imune específica que pode conter a multiplicação e disseminação do fungo. Indivíduos imunocomprometidos, especialmente os com imunossupressão celular estão sob maior risco de desenvolver a doença, quer seja imediatamente após a infecção ou por reativação endógena tempos depois da infecção (EISEMAN *et al.*, 2007). Acredita-se que em alguns casos as leveduras permanecem em latência nos fagolisossomos dentro dos gânglios linfáticos do tórax que podem ser formados na primeira infância (MAZIARS; PERFECT, 2016). Quando a imunodeficiência ocorre, as leveduras são reativadas e disseminadas na corrente sanguínea para diferentes órgãos (DEL POETA; CHATURVEDI, 2012; KRONSTAD *et al.*, 2011).

Fatores de virulência do fungo são também importantes no processo de adoecimento (figura 2). A cápsula mucilaginosa que é composta principalmente por dois tipos de polissacarídeos glucuronoxilomanana e galactoxilomanana, responsáveis pela definição dos 5 sorotipos (A, B, C, D e o sorotipo híbrido AD). A cápsula também estimula a produção de citocinas e impede a fagocitose, pois exibe uma superfície que não é reconhecida, podendo evadir de macrófagos (ZARAGOZA *et al.*, 2008).

Figura 2 – Célula de *Cryptococcus* spp. secretando seus fatores de virulência



Fonte: Adaptado de Kronstad *et al.*, 2011.

A enzima lacase atua na síntese da melanina que confere proteção contra a morte oxidativa pelos macrófagos e contribui para a disseminação extrapulmonar (NOSANCHUK; CASADEVALL, 2006; WILLIAMSON, 2018).

A fosfolipase B facilita a invasão do fungo no tecido pulmonar do hospedeiro e contribui para a disseminação hematogênica. Tanto a fosfolipase quanto a lacase estão na parede celular mediando a integridade e a formação da melanina, respectivamente (SIAFAKAS *et al.*, 2007).

A urease catalisa a formação da amônia a partir da ureia e essa atividade potencializa a invasão do fungo no SNC (NOSANCHUK; CASADEVALL, 2006; SIAFAKAS *et al.*, 2007).

2.4 EPIDEMIOLOGIA

A criptococose é uma doença de distribuição e impacto mundial. Inicialmente, estava relacionada a casos esporádicos, afetando indivíduos com comprometimento imunológico. A partir da década de 80, com a epidemia de aids, os estudos sobre a doença tornaram-se mais evidentes, pois a criptococose se mostrou uma infecção oportunista com considerável impacto nas taxas de morbimortalidade (PAPALLARDO; MELHEM, 2003). Porém, com o desenvolvimento da terapia antirretroviral (TARV), observou-se uma redução significativa das mortes relacionadas à aids em 45% (de 2 milhões para 1,1 milhão) em todo o mundo (LORTHOLARY *et al.*, 2006; RAJASINGHAM *et al.*, 2017). Nesse ínterim, a estimativa global atualizada da prevalência de criptococose encontra-se em 6% para pacientes com contagem de TCD4 células/mm³, abaixo de 200, contabilizando 278.000 pessoas com antigenemia criptocócica, sendo a meningite criptocócica responsável por 15% das mortes relacionadas à aids (RAJASINGHAM *et al.*, 2017; WILLIAMSON, 2017).

Na África subsaariana, onde os casos por HIV são mais frequentes, estima-se que ocorram mais de 700 mil casos anuais de criptococose e a meningite criptocócica é responsável por 20-25% de mortes em pacientes com aids. Essas taxas são superiores às observadas por tuberculose (PARK *et al.*, 2009).

A terceira região com maior incidência de casos da coinfeção criptococose HIV/aids no mundo é a América Latina, onde o Brasil e a Colômbia se destacam pelo maior número de casos reportados (1001-2500 casos), seguidos pela Argentina e México (501-1000) casos. Nesses países, a letalidade da doença nos pacientes coinfectados com HIV/aids é alta, variando entre 13% e 73% (NOGUERA *et al.*, 2015; FERREIRA-PAIM *et al.*, 2017; FIRACATIVE *et al.*, 2021).

No Brasil, a criptococose não é de notificação compulsória, portanto não há dados precisos sobre sua incidência. Em fevereiro de 2020, uma portaria ministerial incluiu a criptococose na Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública (PORTARIA Nº 264, DE 17 DE FEVEREIRO DE 2020), no entanto ela foi revogada em 18 de maio de 2020 (PORTARIA Nº 1.061, DE 18 DE MAIO DE 2020), persistindo a dificuldade na implantação de programas para o controle desta doença.

O conhecimento sobre distribuição geográfica, prevalência, incidência e morbidade da criptococose baseia -se em análises retrospectivas de série de casos, banco de dados de pesquisas e do Sistema de Internações Hospitalares do Sistema Único de Saúde (SIH-SUS) (BRASIL, 2021).

Sobre a epidemiologia molecular das espécies de *Cryptococcus* no território brasileiro, Trilles *et al.* (2008), reuniram 443 isolados clínicos e ambientais de *C. neoformans* e *C. gatii* provenientes de 11 estados brasileiros, mostrando predominância de *C. neoformans* var. *grubi* VNI (64%) sobre VNII (5%), VNIV (3%) e VNIII (<1%). Para *C. gatii*, predominou o tipo VGII (21%) sobre VGIII (4%) e VGI (3%) (TRILLES *et al.*, 2008).

Em Mato Grosso do Sul, a prevalência de criptococose em pacientes com aids e imunossupressão grave é de 13,0% (intervalo de confiança de 95%- de 9,3 a 18,0%) e a letalidade foi de 30% (NEGRI, 2020).

2.5 ASPECTOS CLÍNICOS E PATOLÓGICOS

Os pacientes imunossuprimidos geralmente desenvolvem a doença com acometimento do SNC, apresentando cefaleia, febre e vômitos como primeiros sinais e sintomas da criptococose (NOGUERA *et al.*, 2015). A neurocriptococose se configura como a forma predominante em pacientes HIV/aids apresentando altas taxas de letalidade (RAJASINGHAM *et al.*, 2017).

Evidências histológicas mediante necropsia mostram o envolvimento do parênquima do SNC com o comprometimento de gânglios basais, mesencéfalo e menos frequentemente, do cerebelo. A presença de grandes criptococomas e infiltrados inflamatórios difusos é frequente nesses pacientes. Ainda podem ser observados múltiplos pseudocistos de aspecto gelatinoso com massiva concentração de *C. neoformans* nos espaços Virchow Robin e áreas adjacentes como consequência da disseminação fúngica ao longo dos espaços perivasculares (HENAO-MARTÍNEZ; BECKHAM, 2015).

As formas ganglionares da doença podem ser restritas ou coexistir com as demais manifestações clínicas e a forma tegumentar pode se desenvolver por disseminação hematógena, sendo a presença de lesões dermatológicas observada em cerca de 8% dos casos clínicos. Estas lesões apresentam aspectos diversos, desde lesões acneiformes pustulosas ou úlceras granulomatosas a massas tumorais profundas e exsudativas (WANG *et al.*, 2015).

Pacientes com HIV/aids e contagem de CD4+ abaixo de 200 cel/mm³ apresentam risco potencial para o desenvolvimento da infecção disseminada, sendo que os órgãos mais frequentemente envolvidos são o baço (50%), os intestinos (45%), os pulmões (38%), os rins (38%), o fígado (38%), o pâncreas (18%) e a tireoide (16%). Em uma pesquisa *post-mortem* de 45 pacientes com HIV/aids, foram encontrados 68,9% de doença disseminada com diagnóstico confirmado de criptococose (TORRES *et al.*, 2016).

2.6 DIAGNÓSTICO

Por apresentar marcado tropismo pelo SNC, o *Cryptococcus* spp é mais frequentemente diagnosticado por exame de líquido cérebro espinal (LCE), o que demanda hospitalização para punção lombar e realizada por médico experiente, além de microscopista capacitado (MORETTI *et al.*, 2008).

O diagnóstico microbiológico pode ser realizado a partir de amostras clínicas de escarro, lavado brônquico alveolar, LCE, secreções de abscessos, urina, aspirados de medula óssea e gânglios e biópsias teciduais (WHO, 2018). Tem elevada sensibilidade, no entanto, também demanda estrutura de saúde mais complexa (MITCHEL; PERFECT, 1995; WHO, 2018).

Para o exame direto, utiliza-se nigrosina (tinta da China) para visualizar a levedura encapsulada cuja cápsula é vista em contraste negativo (não corada) e se apresenta como um halo claro com diâmetro de 5 a 20 µm envolvendo uma célula fúngica (blastoconídeo). Em paciente HIV/aids apresenta uma sensibilidade de 80%, nos demais pacientes, em torno de 50%; no entanto, não permite a identificação da espécie (WILLIAMSON, 2017; ARECHAVALA *et al.*, 2018).

O exame histopatológico de fragmentos de biópsias teciduais é útil quando há comprometimento de pele e dos pulmões. Colorações como ácido peródico de Schiff e mucicarmin de Mayer podem revelar a presença do fungo (MAZIARZ; PERFECT, 2015).

O imunodiagnóstico realizado pela técnica de aglutinação de partículas de látex para detecção de antígeno capsular do *Cryptococcus* spp (CRAG) é considerado o principal teste diagnóstico utilizado na rotina laboratorial para triagem da criptococose. Essa técnica

compreende a detecção de antígenos polissacarídeos capsulares, glucuronoxilomanana e galactoxilomanana do *Cryptococcus* spp, nos fluidos biológicos, usualmente no soro e LCE (ARECHAVALA *et al.*, 2018). Esse, embora não permita também a identificação da espécie, apresenta altas taxas de sensibilidade e especificidade, de 95% a 98%, fácil execução, resultado rápido e com inúmeros kits comerciais disponíveis (ROBERT; NAIL- BILLARD, 2015).

O teste CRAG-LFA por ensaio de fluxo lateral (teste rápido) é um ensaio imunocromatográfico que utiliza dois anticorpos monoclonais conjugados a ouro, impregnados em uma fita de teste sendo capaz de identificar todos os sorotipos de *Cryptococcus* spp, podendo ser utilizadas várias amostras biológicas, também de fácil execução, não necessitando estrutura laboratorial, apresentando sensibilidade e especificidade acima de 98%. Esse exame é importante para o diagnóstico precoce pois pode detectar antígenos de criptococos circulantes até três semanas antes dos sintomas neurológicos (VIDAL; BOULWARE, 2015; WILLIAMS, 2015).

Cryptococcus spp pode facilmente crescer com amostras biológicas em meio de cultura para fungos, as colônias são observadas em meio sólido entre 48 a 72 h a 30-35°C em condições aeróbicas (MAZIARZ; PERFECT, 2015). A cultura em LCE tem elevada sensibilidade, maior que a pesquisa direta, e constitui-se em importante ferramenta para confirmar o diagnóstico de neurocriptococose. A hemocultura pode revelar a presença do fungo no sangue nos casos de fungemia (MORETTI *et al.*, 2008). Tem a desvantagem de levar até 72 horas para crescer, e deve ser observada por até 4 semanas, sobretudo em pacientes que recebem tratamento antifúngico; o meio de cultura canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB), diferencia o complexo de espécies *C. neoformans* do *C. gattii*, pois torna-se azul no complexo *C. gattii* (LAHIRI *et al.*, 2020).

Os exames de imagem não são definidores, mas podem contribuir para o diagnóstico da doença, apresentando como principais sinais da criptococose pulmonar: nódulos isolados ou múltiplos, massas de localização subpleural e consolidação com broncograma aéreo. Na meningoencefalite criptocócica a tomografia computadorizada e a ressonância magnética do crânio, geralmente, mostram-se normais em metade dos casos da doença; nos demais casos podem revelar hidrocefalia, reforço em torno dos giros, nódulos únicos ou múltiplos (criptococomas) em encéfalo ou leptomeninges e, mais raramente, nódulos miliares disseminados por todo o sistema nervoso (SEVERO *et al.*, 2009).

O uso de técnicas moleculares na criptococose dentre as quais, reação em cadeia da polimerase (PCR), *fingerprinting*, *Multi Locus Sequence Typing* (MLST), espectrometria de massa, permitem estudos mais abrangentes sobre a epidemiologia e história natural da doença,

assim como o monitoramento das cepas resistentes do microrganismo, identificação de potenciais biomarcadores e mapeamento genético da diversidade de espécies ambientais (RHODES *et al.*, 2017). Técnicas de PCR e MLST também são utilizadas na distinção das espécies e da resistência a antifúngicos (FERREIRA-PAIM, 2017; LAHIRI, 2020; FIRACATIVE, 2021).

2.7 TRATAMENTO

O tratamento da criptococose consiste em 3 fases:

a) Indução para reduzir a carga fúngica, sendo preconizada a combinação de anfotericina B (ANFB) da classe dos polienos com fluocitosina, um antifúngico fluorado sintético e fluconazol(triazólico);

b) Consolidação, que tem como objetivo a negatização da carga fúngica e normalização dos parâmetros clínicos por meio da administração de fluconazol da classe dos triazólicos em alta concentração;

c) Manutenção, com o objetivo de evitar recidiva, onde o tratamento varia de acordo com o estado geral do hospedeiro, podendo durar de seis meses a um ano, numa concentração menor.

Os esquemas terapêuticos atuais para a criptococose estão listados na figura 3.

Figura 3 – Quadro com recomendações para tratamento da criptococose em pacientes adultos com infecção por HIV/aids

Drogas indisponíveis	Fase de indução (2 semanas)	Fase de consolidação (8 semanas)	Fase de manutenção (CD4>200 células e carga viral indetectável)
Nenhuma	Anfotericina B 10mg/Kg dia (dose única) + Fluocitosina 100mg/KG (divididos 4x ao dia) e Fluconazol 1200mg dia, por 14 dias.	Fluconazol 800mg/dia	Fluconazol 200mg/dia
Anfotericina B lipossomal	Anfotericina desoxicolato B 0,7mg (7 dias) + Fluocitosina 100mg/Kg (divididos em 4x dia por 7 dias) seguidos de mais 7 dias com Fluconazol 1200mg dia.		
Qualquer anfotericina B	Fluconazol 1200mg dia + Fluocitosina 100mg/Kg (divididos 4x dia) por 14 dias.		
Fluocitosina	Anfotericina B lipossomal 3-4mg/Kg + Fluconazol 1200mg, por 14 dias.		

Anfotericina B e fluocitosina	Anfotericina B 1mg/Kg dia + 1200mg Fluconazol dia (por 14 dias).		
-------------------------------	--	--	--

Fonte: Rapid Advice: diagnosis prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children, WHO, 2022.

A anfotericina B desoxicolato tem propriedades nefrotóxicas e, geralmente, associa a injúria renal aguda e hipocalemia como eventos adversos, enquanto as formulações lipídicas de anfotericina B são as que oferecem menor toxicidade. No entanto, pelo seu alto custo, não são disponibilizados regularmente para a maioria dos hospitais públicos e centros de referência HIV/aids no Brasil (WILLIAMSON *et al.*, 2017; BRASIL, 2018).

Além da terapêutica fungicida, o monitoramento da pressão intracraniana (PIC) é preconizado a partir da punção lombar inicial para os casos de neurocriptococose, pois este é um fator de risco relevante para um pior prognóstico da doença (DE AZAMBUJA *et al.*, 2018). Para o manejo da hipertensão intracraniana, secundária à doença criptocócica são adotadas as condutas a seguir: quando a pressão de abertura liquórica for superior a 25 cm H₂O e estiverem presentes sinais de edema cerebral, essa deve ser reduzida em 50% da pressão inicial por meio da punção lombar (PL) de alívio (normalmente com retirada de 20 a 30 ml de líquido). A PL de alívio deve ser repetida diariamente até a estabilização da pressão intracraniana (PIC); na presença de PIC estável e normal em duas aferições consecutivas, recomenda-se PL semanal para monitoramento de resposta terapêutica e quando a PIC se mantiver persistentemente elevada após 2 semanas de PL diária, é recomendada a abordagem neurocirúrgica para derivação liquórica (BRASIL, 2018; WHO, 2018). A derivação liquórica é indicada para aqueles pacientes que não toleram a punção diária e persistem com sinais e sintomas de edema cerebral (BRASIL, 2018).

A falha terapêutica tanto pode estar relacionada a fatores do hospedeiro quanto à existência de cepas de *Cryptococcus* resistentes aos antifúngicos. Cannon *et al.* (2009), sugere que a resistência aos azóis é determinada pela mutação do gene *C. neoformans* ERG11 com consequente aumento do efluxo das drogas, sendo que a resistência pode ser adquirida durante a terapia de manutenção prolongada. Enquanto a resistência cruzada a ANFB e fluconazol se refere à mutação do gene *C. neoformans* ERG2p ou ERG3p, a qual resulta em uma redução dos níveis de ergosterol (CANNON *et al.*, 2009). Basso *et al.* (2015), em um estudo experimental, identificaram a expressão de genes mutantes *C. gattii* e *C. neoformans* (AFRI MDR1 e AFR2) codificadores dos transportadores ABC (bombas de efluxo), os quais bombeiam múltiplos azóis, resultando na resistência aos fármacos.

2.8 COINFECÇÃO CRIPTOCOCOSE E HIV/AIDS

Cerca de 6 a 10% dos pacientes que desenvolvem aids adquirem a criptococose, nos quais a principal forma clínica é a neurocriptococose (RAJASINGHAM *et al.*, 2017; WILLIAMSON, 2017).

Segundo dados do Ministério da Saúde (MS), do Boletim Epidemiológico HIV/aids, estima-se que cerca de 920 mil pessoas vivam com HIV no Brasil. Dessas, 89% foram diagnosticadas e dentre elas 77% fazem tratamento com antirretrovirais (BRASIL, 2020). Mesmo após o início da implementação da TARV, somando avanços terapêuticos responsáveis pela redução significativa da mortalidade, a infecção criptocócica emerge como um indicador de uma lacuna na efetividade dos serviços de assistência especializada (SAE), cujo teste rápido para diagnóstico de infecção pelo HIV precoce e adesão de forma ininterrupta à TARV, permanecem como uma prioridade urgente (RAJASINGHAM *et al.*, 2017).

A TARV é recomendada para todos os pacientes coinfetados com criptococose/HIV/aids, no entanto, há o risco de interação medicamentosa e eventos adversos dos medicamentos, decorrente da toxicidade pelo uso de vários fármacos. Além disso, há o risco de desenvolvimento da Síndrome Inflamatória da Reconstituição Imune (IRIS), sendo recomendado, preferencialmente, aguardar de quatro a seis semanas de terapia antifúngica para instituir a TARV, para evitar a ocorrência de IRIS, exceto na antigenemia isolada quando a TARV pode ser iniciada após duas semanas de tratamento (MOURAD; PERFECT, 2018; WHO, 2022).

2.8.1 Terapia antirretroviral

A terapia antirretroviral (TARV) iniciou-se em 1986 com o uso da zidovudina (AZT), um inibidor da transcriptase reversa. A partir de então, um grande e crescente número de antirretrovirais para tratamento de indivíduos infectados principalmente pelo HIV-1, foram desenvolvidos. Todas as etapas no ciclo de replicação do HIV são alvos potenciais para uma droga antirretroviral. É evidente a eficácia terapêutica, principalmente após a introdução do conceito HAART (*highly active antiretroviral therapy*), que é a combinação dos inibidores da protease e transcriptase reversa de forma a ser extremamente efetiva na redução da carga viral plasmática de RNA-HIV 1 para níveis indetectáveis. No entanto, existem importantes barreiras no sucesso a longo e médio prazo do tratamento. As principais dificuldades estão associadas

com a toxicidade dos medicamentos, adesão do paciente e resistência viral (COLOMBRINI *et al.*, 2006, FALCI *et al.*, 2006).

A terapia inicial deve incluir sempre três combinações de drogas: dois inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (ITRN) associados a um inibidor de integrase (II), que oferecem maior barreira genética à resistência que os ITRNN. (BRASIL, 2018)

2.8.1.1 Tipos de antirretrovirais disponíveis no Brasil

É essencial seguir as diretrizes para o tratamento de HIV/aids no Brasil e para tanto, os seguintes antirretrovirais estão disponíveis e recomendados (BRASIL, 2018):

a) Inibidores de nucleosídeos da transcriptase reversa (ITRN)

Essa classe de medicamentos atua sobre a enzima transcriptase reversa, tornando defeituosa a cadeia de DNA que o HIV cria dentro das células de defesa do organismo. Essa ação impede que o vírus se reproduza. Os principais representantes dessa classe são: abacavir (ABC), lamivudina (3TC), tenofovir (TDF) e zidovudina (AZT).

b) Inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa (ITRNN)

Essa classe de medicamento também atua na enzima transcriptase reversa, bloqueando sua ação e a replicação do vírus, sendo os fármacos mais usados: efavirenz (EFV), nevirapina (NVP) e etravirina (ETR).

c) Inibidores da protease (IP)

Medicamentos que atuam na enzima protease, bloqueando sua ação e impedindo a produção de novas cópias de células infectadas com HIV, sendo que os mais usados atualmente são: atazanavir (ATZ), darunavir (DRV), fosamprenavir (FPV) e tripanavir (TPV).

d) Inibidores de fusão (IF)

Medicamentos que impedem a entrada do HIV na célula de defesa do organismo, impedindo sua reprodução, sendo a enfuvirtida (T20) o fármaco disponível desta classe.

e) Inibidores da integrase (II)

Medicamentos que bloqueiam a atividade da enzima integrase, responsável pela inserção do HIV ao DNA humano. Assim inibem a replicação do vírus e sua capacidade de infectar novas células. Dolutegravir (DTG) e raltegravir (RAL) são os dois medicamentos atualmente em uso desta classe de antivirais.

f) Inibidores de entrada (IE)

Classe de medicamentos que impede a entrada do HIV na célula de defesa do organismo, impedindo sua reprodução. Sua atuação se baseia no bloqueio de receptores CCR5 (proteína

localizada na superfície dos macrófagos), impedindo a entrada do HIV e infecção dessas células. O medicamento desta classe comercialmente disponível é o maraviroc (MRV).

2.8.1.2 Falha terapêutica

Define-se falha terapêutica quando, na vigência de TARV, o paciente apresentar qualquer infecção oportunista (falha clínica); quando houver queda progressiva na contagem celular de CD4+ (falha imunológica) e carga viral detectável após seis meses do início ou da modificação do tratamento (falha virológica). Daí a importância do acompanhamento laboratorial da contagem de células CD4 + e carga viral do HIV a cada três ou seis meses e se houver suspeita de resistência aos antirretrovirais solicitar o teste de genotipagem para identificar códons de resistência (BRASIL, 2018).

2.8.2 Recuperação imunológica após criptococose

Estudos *in vitro* sustentam a hipótese da interação sinérgica do HIV e *Cryptococcus* spp, de forma que o vírus causa a degradação das células da resposta inflamatória do sistema imunológico do hospedeiro. Isso contribui para a disseminação da infecção criptocócica, enquanto *Cryptococcus* spp, é capaz de induzir e acelerar a replicação do RNA viral favorecendo a progressão da aids (ORENDI *et al.*, 1994, ORENDI *et al.*, 1998; CHANG *et al.*, 2013). A longo prazo, as sequelas decorrentes das lesões teciduais induzidas pela infecção, particularmente as sequelas neurológicas e oftalmológicas, têm sido bem estudadas (NUNES *et al.*, 2018; PERFECT *et al.*, 2010). No entanto, o impacto da coinfeção na recuperação imunológica na aids, não tem sido avaliada.

Sabe-se que no processo de adoecimento da criptococose, a imunidade celular do hospedeiro, principalmente de seus linfócitos T (LT) CD4+ e CD8+ são fundamentais para impedir a multiplicação do patógeno e o avanço para a doença pulmonar e extrapulmonar. Por isso pacientes com aids estão muito mais susceptíveis. No entanto, fatores relacionados à virulência do fungo também têm papel nesse processo, tais como a formação de uma cápsula polissacarídica, que entre outros, exerce fator deletério no sistema imunológico do indivíduo, inclusive inibindo a ativação e proliferação das células T, promovendo um escape do microrganismo (EISENMAN; CASADEVALL; MCCLELLAND, 2007).

As frequentes recidivas observadas em pacientes tratados de criptococose sugerem que o tratamento antifúngico pode não eliminar todas as formas do fungo, sendo a recuperação

imunológica fundamental para manter os microrganismos sobreviventes inviáveis e não replicantes (EISENMAN; CASADEVALL; MCCLELLAND, 2007).

Após seis a oito semanas do início da TARV, observa-se uma redução da carga viral do HIV a níveis indetectáveis, e a partir de então, a contagem de células CD4+ progressivamente se elevam, atingindo níveis iguais ou maiores do que 350 células/ μ L, impedindo que novas doenças oportunistas se instalem (MOURAD; PERFECT, 2018).

Para avaliar se a criptococose interfere na recuperação imunológica em pacientes com aids e imunossupressão grave em uso de TARV, acompanhamos pacientes de um serviço de referência em HIV/aids de Mato Grosso do Sul, que fizeram parte de um estudo transversal de prevalência de criptococose em pessoas vivendo com HIV/aids, iniciado em 2015 (NEGRI, 2020). Considerando o exposto acima, a hipótese é de que a recuperação imunológica em pacientes com aids e criptococose é menos frequente e, ou mais tardia do que em pacientes com aids sem criptococose.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se há associação entre a criptococose e a recuperação imunológica em até cinco anos de seguimento de pacientes infectados pelo HIV com imunossupressão grave.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para atender o objetivo geral foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- a. Descrever as características demográficas e clínicas basais dos pacientes;
- b. Verificar a frequência de pacientes com e sem criptococose que atingem linfócitos $CD4 \geq 350$ células/mm³ durante o seguimento de cinco anos e as variáveis associadas à recuperação imunológica;
- c. Avaliar o tempo para a recuperação imunológica de pacientes com e sem criptococose;
- d. Analisar a taxa de letalidade e sobrevida de pacientes com e sem criptococose.

4 METODOLOGIA

4.1 DESENHO, LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo de coorte, com dois grupos de pacientes acompanhados por até cinco anos, um grupo com e um grupo sem criptococose (exposição), pareados por níveis basais de linfócitos CD4+ para avaliar a taxa de recuperação imunológica e a mortalidade (desfechos).

O estudo foi realizado na Unidade de Doenças Infecciosas (UDIP) do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), alocados consecutivamente, entre 01 de março de 2015 a 31 de julho de 2017.

4.2 PARTICIPANTES DO ESTUDO

4.2.1 Etapa 1: triagem de criptococose

Na primeira etapa do estudo foram triados pacientes consecutivos com diagnóstico de infecção pelo HIV e com contagem de CD4+ ≤ 200 células/ mm³, com ou sem sintomas. Foram excluídos os que tinham história prévia de criptococose.

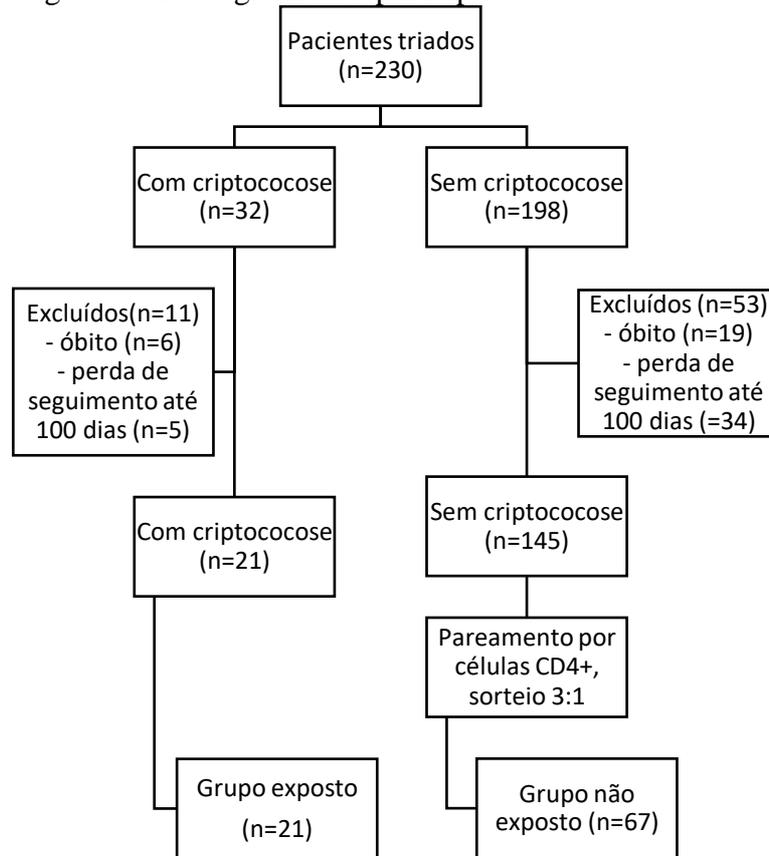
Todos foram submetidos a triagem com ensaio de fluxo lateral (LFA), látex, hemocultura e urinocultura para criptococose.

4.2.2 Etapa 2: composição dos grupos

Grupo com criptococose (exposto). O critério de inclusão neste grupo foi ter diagnóstico de criptococose, definido como qualquer dos testes supracitados positivo. Foram excluídos aqueles que não puderam ser acompanhados por pelo menos 100 dias, quer seja por óbito ou por abandono de seguimento.

Grupo sem criptococose (não exposto). O critério de inclusão neste grupo era não ter criptococose. Os mesmos critérios de exclusão do grupo exposto foram usados. Dentre os elegíveis para este grupo, foram selecionados três pacientes não expostos para um exposto, pareados por faixa de CD4+, e randomizados por sorteio simples (Figura 4).

Figura 4 – Fluxograma dos participantes do estudo



4.3 VARIÁVEIS

Variáveis demográficas, epidemiológicas e clínicas foram obtidas do momento da inclusão no estudo, com um formulário padrão.

As variáveis de desfecho foram investigadas na evolução dos pacientes nos cinco anos subsequentes, tais como ocorrência de óbito, carga viral (CV) do HIV e contagem de células CD4+. Os pacientes foram avaliados a cada três meses.

Desfechos:

a) Primário:

- Taxa de recuperação imunológica

b) Secundários:

- Taxa de mortalidade;
- Tempo para a recuperação imunológica;
- Tempo para óbito.

4.4 DEFINIÇÃO DE TERMOS

Recuperação imunológica: contagem de células CD4+ igual ou maior do que 350 células/mm³ com CV do HIV indetectável.

Uso regular de TARV: foi considerado uso regular quando referido pelo paciente e quando os medicamentos foram retirados da farmácia mensalmente, aceitando-se um atraso de até 15 dias, período que poderia corresponder a eventuais sobras de medicamentos após hospitalizações.

4.5 ORGANIZAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS

As variáveis do estudo foram registradas em formulário específico elaborado para este projeto (apêndice A)

Os dados obtidos foram tabulados em planilha de Excel para a realização das análises estatísticas.

Para a análise da associação da variável de exposição e desfechos foram utilizados: o teste qui-quadrado ou prova exata de Fisher para valores esperados menor do que 5, para variáveis categóricas; e, o teste U de Mann - Whitney para variáveis contínuas. A magnitude das associações foi analisada pela odds ratio e intervalo de confiança de 95% (IC 95%). . Análise multivariada por regressão logística foi usada para avaliar variáveis independentemente associadas à recuperação imunológica.

O tempo para atingir a recuperação imunológica e o tempo para óbito nos dois grupos foram obtidos pela curva de Kaplan Meier e analisados pelo Log rank.

Foi utilizado o programa computacional Jamovi (Version 2016) para análise estatística. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo e de 0,05 a 0,10 foi considerado uma tendência à significância estatística.

4.6 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos (CEP) da UFMS, sob o protocolo de número: CAAE 4544892.30000.0021.

5 RESULTADOS

O estudo avaliou 2 coortes que totalizaram 88 pacientes, 21 com criptococose (grupo exposto) e 67 sem criptococose (grupo não exposto).

Todos os pacientes com criptococose apresentavam manifestações clínicas, 19 (90,0%) tinham neurocriptococose confirmada com cultura de LCE positiva e dois pacientes tinham manifestações neurológicas, com LCE normal. A tabela 1 mostra que ambos os grupos tinham características epidemiológicas e clínicas basais similares, exceto pelo fato de que pacientes sem criptococose apresentaram maior frequência de neurotoxoplasmose ($p=0,002$) e uma tendência de uso de TARV prévio à entrada no estudo ($p=0,053$).

Após a alocação no estudo, os pacientes foram acompanhados no Hospital Dia, e, foram avaliados a cada três meses, sendo que no grupo com criptococose, 38,1 % (8/21) fizeram uso regular da TARV, enquanto no grupo sem criptococose 50,0% (33/67) trataram com regularidade ($p=0,341$). A carga viral do HIV estava indetectável na última avaliação em 52,4% (11/21) e em 61,2% (41/67) entre o grupo exposto e não exposto, respectivamente ($p=0,474$) (Tabela 2).

Tabela 1 – Características demográficas e clínicas basais de pacientes com aids e imunossupressão grave com criptococose e um grupo sem criptococose pareado por nível de células CD4+. Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Campo Grande-MS, 2015 a 201

Variáveis	Com criptococose n=21		Sem criptococose n=67		Valor de P
	N ou mediana	(%) ou [IQR]	N ou mediana	(%) ou [IQR]	
Sexo masculino	18	(85,7)	47	(70,1)	0,157*
Idade	36	[33-41]	37	[32,5-45]	0,573*
Contagem de CD4+	34	[19-63]	34	[15,5-58]	0,773*
Outra DO	21	(100)	62	(92,5)	0,332#
LV	4	(19,0)	25	(37,3)	0,120*
TB	4	(19,0)	9	(13,4)	0,501#
CMV	5	(23,8)	10	(14,9)	0,338#
Neurotoxoplasmose	1	(4,8)	27	(40,3)	0,002*
PPJ	2	(9,5)	4	(13,4)	0,626*
Histoplasmose	1	(4,8)	3	(4,5)	1,00*
Em uso prévio de TARV	17	(81,0)	64	(95,5)	0,053#
Tipo de TARV					
2ITRN+1ITRNN	5	(29,4)	21	(42,0)	0,358
2ITRN+ 1IP	8	(44,4)	23	(42,6)	0,891
2ITRN+ 1II	3	(16,7)	2	(3,7)	0,096
Outros	1		4		1,000
Forma clínica criptococose					
Neurocriptococose	19	(90,0)	-	-	-
Outra	2	(10,0)	-	-	-

IQR: intervalo interquartil [1º- 3º] DO: doença oportunistica; LV: leishmaniose visceral; TB: tuberculose; CMV: citomegalovirose; PPJ: pneumonia por *Pneumocystis jiroveci*; TARV: terapia antirretroviral; ITRN: inibidor de transcriptase reversa nucleosídeo; ITNN: inibidor de transcriptase reversa não nucleosídeo; IP: inibidor de protease; II: inibidor de integrase. IQR: intervalo interquartil. *Teste qui quadrado #Prova exata de Fisher#; Mann-Whitney U.

Os pacientes foram acompanhados por 100 dias a cinco anos. A mediana de tempo de acompanhamento do grupo com criptococose foi de 2,82 anos [IQR 0,79- 4,49] e a do grupo sem criptococose foi de 3,63 [IQR 2,32-4,41] (p= 0,382). A tabela 2 mostra que a taxa de recuperação imunológica entre o grupo que tinha criptococose foi de 19,0% (4/21), enquanto

no grupo sem criptococose foi de 38,8% (26/67), com uma tendência de significância estatística ($p=0,096$). Nenhuma diferença estatística foi observada nos outros desfechos analisados.

Tabela 2 – Desfechos de pacientes com aids e imunossupressão grave com criptococose e um grupo sem criptococose pareado por nível de células CD4+ na inclusão do estudo. Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian, Campo Grande-MS, 2015 a 2017

Variáveis	Com criptococose n=21 n (%) ou mediana [IQR]	Sem criptococose n=67 n (%) ou mediana [IQR]	Valor de P
De seguimento			
Tempo de seguimento (em anos)	2,82 [0,79- 4,49]	3,63 [2,32-4,41]	0,382
Uso regular da TARV	8 (38,1)	33 (49,3)	0,311
Carga viral indetectável	11 (52,4)	41 (61,2)	0,474
De desfecho			
CD4F/CD4I	5,62 [1,10-9,0]	4,62 [1,29-11,2]	0,856
CD4F-CD4I	150 [11-176]	149 [14-313]	0,293
Recuperação Imunológica	04 (19,0)	26 (38,8)	0,096
Tempo para recuperação imunológica (em meses)	19,5 [12,0- -]	29,0 [16,0-43,0]	0,203 ∞
Óbito*	03 (14,3)	05 (7,5)	0,343
Tempo para óbito (em dias)	303 [202-442]	281 [269-482]	1,000 ∞

IQR: intervalo interquartil [1° - 3°]. Teste qui-quadrado ou Fisher; Mann -Whitney U; ∞ Log Rank. CD4 F: contagem de células CD4 final; CD4I: contagem de células CD4 inicial. *Óbito por qualquer causa.

As variáveis com valor de $p < 0,20$ foram analisadas por regressão logística e aquelas independentemente associadas à recuperação imunológica foram: grupo etário, carga viral indetectável (em qualquer momento do seguimento) e tempo de seguimento. A chance de não alcançar a recuperação imunológica foi mais do que cinco vezes maior nos com 40 anos ou mais (ORa 5,50 IC95% (1,63-18,57)). Já para aqueles com carga viral indetectável no seguimento e para os que foram acompanhados por mais do que 3,6 anos (mediana do tempo de seguimento dos 88 participantes) a chance de alcançar a recuperação foi de 80% e de 73% maior do que os que não apresentaram carga viral indetectável (Ora 0,20 (IC95% 0,05-0,76)) e do que os acompanhados por 3,6 anos (ORa 0,27 (IC95% 0,09-0,83)) ou menos, respectivamente. A análise multivariada mostrou que a chance de um paciente com criptococose não atingir a recuperação imunológica foi quase quatro vezes maior (ORa 3,61) do que aqueles sem criptococose, no entanto, o intervalo de confiança de 95% variou de 0,90 a

14,53 (Tabela 3). Cabe ressaltar que mesmo após a regressão, a tendência de associação entre criptococose e recuperação imunológica ($p=0,071$) persiste.

Tabela 3 – Variáveis associadas a não atingir a recuperação imunológica em uma coorte de pacientes com aids e imunossupressão grave, com e sem criptococose, pareados por nível de células CD4+ na inclusão do estudo. Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossi

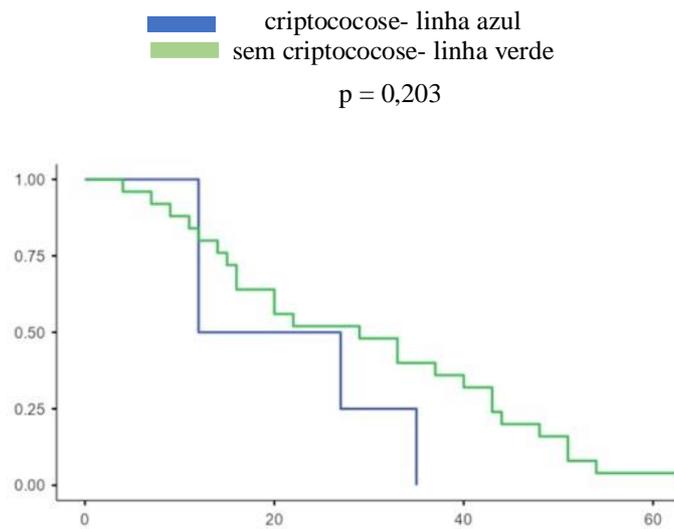
Variáveis	Não atingiram a recuperação imunológica N= 58 n (%)	OR (IC95%)	p	ORa (IC 95%) ^{&}	Valor de P
Criptococose			0,096		0,071
Não (n=67)	41 (61,2)	1		1	
Sim (n=21)	17 (81,0)	2,70 (0,82-8,90)		3,61 (0,90-14,53)	
Idade \geq 40 anos			0,042		0,006
Não (n=53)	30 (57,7)	1		1	
Sim (n=35)	28 (80,0)	3,07 (1,14-8,26)		5,50 (1,63-18,57)	
Leishmaniose Visceral			0,367		
Não (n=59)	37 (62,7)	1			
Sim (n=29)	21 (73,1)	1,56 (0,59-4,12)			
Neurotoxoplasmose			0,482		
Não (n=60)	41 (68,3)	1			
Sim (n=28)	17 (60,7)	0,72 (0,28-1,82)			
Tuberculose			1,000		
Não	49 (65,3)		#		
Sim	9 (69,2)	1			
Sífilis		0,84 (0,24-2,98)	0,341		
Não		1			
Sim		5,95 (0,24-151,00)			
Uso prévio de TARV			0,686		
Não (n=7)	4 (57,1)	1			
Sim (n= 81)	54 (66,7)	1,50 (0,31-7,19)			
Uso regular de TARV no seguimento *			0,008		0,206
Não (n=46)	36 (78,3)	1		1	
Sim (n=41)	21 (51,2)	0,29 (0,12-0,74)		0,47 (0,14-1,52)	
Última indetectável CVHIV			0,001		0,018
Não (n=36)	31 (86,1)	1		1	
Sim (n=52)	27 (51,9)			0,20 (0,05-0,76)	
Seguimento > 3,6 anos			0,020		0,010
Não (n=45)	34 (79,1)	1		1	
Sim (n=43)	24 (53,3)	0,30 (0,12-0,77)		0,27 (0,09-0,83)	

Nota: * não havia informação de um paciente. OR: odds ratio; ORa: OR ajustado; # Prova exata de Fisher; & Análise multivariada por regressão logística. CV: carga viral.

Nas análises de Kaplan Meier, observa-se que o tempo para a recuperação imunológica no grupo com criptococose a mediana de 19,5 [IC95% 12,0- -] e no grupo sem criptococose mediana de 29,0 [IC95% 16,0-43,0] foi semelhante ($p=0,203$), assim também o tempo para

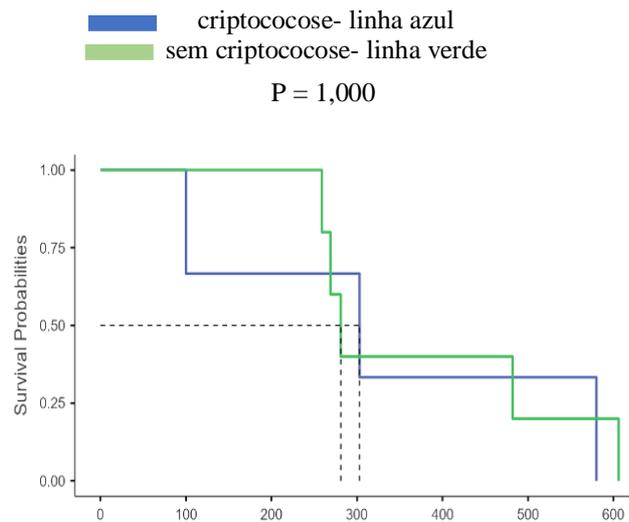
óbito por qualquer causa no grupo exposto mediana de 303[IC95% 202-442] e no grupo não exposto mediana de 281[IC95% 260-482], ($p=1,000$), ambos os desfechos não diferiram entre os grupos (figura 5 e 6).

Figura 5 – Comparação do tempo (em meses) para recuperação imunológica (contagem de células CD4+ > ou = 350) entre pacientes com aids, com e sem criptococose, em um seguimento de até 5 anos. Curva de Kaplan Meier



Fonte:

Figura 6 – Comparação do tempo (em dias) para óbito (por qualquer causa) entre pacientes com aids, com e sem criptococose, em um seguimento de até 5 anos. Curva de Kaplan Meier



Fonte:

6 DISCUSSÃO

A criptococose tem sido considerada uma das principais doenças oportunistas em pacientes HIV/aids e apesar de recentes avanços no diagnóstico, ainda segue impactando na sobrevivência desses pacientes (RAJASHINGAM *et al.*, 2017). Considerando as evidências que *in vitro* *Cryptococcus neoformans* acelera a replicação do HIV em presença de células T (ORENDI *et al.*, 1994, 1997) e a observação clínica empírica de que essa infecção fúngica interfere na recuperação imunológica após início da TARV, esse estudo avaliou o impacto da criptococose na recuperação imunológica em pacientes com HIV/aids num seguimento de até cinco anos.

Os grupos foram pareados apenas por faixa de contagem de CD4+, no entanto apresentavam características basais semelhantes, exceto que o grupo não exposto (sem criptococose) tinha mais casos de neurotoxoplasmose que o grupo exposto (com criptococose). Observou-se uma tendência de maior frequência de uso prévio de TARV no grupo sem criptococose. Todos os pacientes alocados tinham imunossupressão grave, mas o uso prévio de TARV mais frequente no grupo sem criptococose poderia ser um fator de confusão na análise dos desfechos, considerando que estar em uso de antirretrovirais é fator fundamental na recuperação de células CD4+ (LORTHOLARY *et al.*, 2013; DING *et al.*, 2017).

Após o início do acompanhamento, proporções semelhantes de pacientes entre os dois grupos usaram a TARV com regularidade e o tempo de seguimento entre os grupos também não diferiu, o que reduz a interferência dessas variáveis nos desfechos entre os grupos. Observou-se, ainda, uma relativa baixa frequência de adesão da TARV durante o seguimento, menor do que observado em um grande estudo brasileiro (SANTOS *et al.*, 2018) e mesmo do Serviço onde o estudo foi realizado, onde 86,7% estão retirando os medicamentos com regularidade (dados não publicados).

A taxa de recuperação imunológica em ambos os grupos foi também mais baixa do que a relatada em um estudo envolvendo 8.014 indivíduos, que mostrou taxa de recuperação imunológica de 58% (IC95%: 57-58) (MENDICINO *et al.*, 2021). Possivelmente, o critério de inclusão contagem de CD4+ < 200 céls/mm³ selecionou pacientes mais vulneráveis e com maior dificuldade de adesão no presente estudo. Foi observada uma tendência de menor taxa de recuperação imunológica no grupo com criptococose (p= 0,096). É possível que um número maior de participantes pudesse ter demonstrado essa diferença com menor probabilidade de erro.

Pacientes com 40 anos ou mais apresentaram três vezes mais chance de não atingir a recuperação imunológica do que aqueles com menos de 40 anos. Esta variável esteve independentemente associada à recuperação imunológica. A idade está relacionada à imunossenescência e é conhecido fator associado a recuperação imunológica sub-ótima em pacientes com HIV em TARV (KROEZE *et al.*, 2018).

Como esperado, pacientes que apresentaram carga viral do HIV indetectável no seguimento e aqueles que foram acompanhados por mais tempo apresentaram maiores taxas de recuperação imunológica. O objetivo primário da TARV é inibir a replicação do HIV a níveis indetectáveis no sangue do paciente, atingindo a chamada resposta virológica, que é o principal responsável pela resposta imunológica. Existem várias definições para considerar um paciente HIV como um respondedor imunológico e muitas definem como um aumento da contagem de células CD4+ acima de 350, em um período de tempo entre 1 a 10 anos, após o início da TARV. O tempo de uso é determinante para a resposta imunológica (YANG *et al.*, 2020).

Um outro importante fator associado à recuperação imunológica na aids é o nadir de células CD4+, que quanto mais baixo menor a chance de recuperação imunológica após o início da TARV (YANG *et al.*, 2020). Essa variável não foi analisada no estudo porque os grupos da variável de exposição de interesse, a criptococose, foram pareados por faixa de contagem de células CD4+.

O tempo para recuperação imunológica e o tempo para óbito não diferiram entre os dois grupos, indicando que a criptococose não interferiu nesses desfechos. A mediana para tempo de recuperação imunológica foi similar a um grande estudo brasileiro que foi de 22,8 meses que ficou entre as duas coortes desse estudo (MENDICINO *et al.*, 2021).

Sabe-se que a presença de coinfeções e infecções oportunistas também podem interferir na recuperação imunológica, algumas delas podem acelerar a replicação do HIV, como ocorre na sífilis (BRASIL, 2016), tuberculose (MARAIS *et al.*, 2016) e leishmaniose visceral (BOURGEOIS *et al.*, 2008; ALEXANDRINO-DE-OLIVEIRA *et al.*, 2010). Ainda, algumas dessas infecções atuam sinergicamente na imunodeficiência como tem sido demonstrado na leishmaniose visceral (BOURGEOIS *et al.*, 2008). Marais *et al.*, (2016) discutiram a possibilidade da interleucina 17 ter um papel na recuperação dessa coinfeção se comparada com a coinfeção HIV/tuberculose que comprovou acelerar a replicação do vírus tanto *in vitro* quanto em seu estudo. No entanto, no presente estudo, essas infecções não se mostraram associadas à recuperação imunológica.

O fato aqui observado de que aqueles com criptococose apresentaram uma tendência a não recuperação imunológica poderia ser explicada pela já citada interação sinérgica do HIV e

Cryptococcus spp, o que induz injúria das células sistema imunológico do hospedeiro. Isso contribui para a disseminação da infecção criptocócica, enquanto *Cryptococcus* spp, é capaz de induzir e acelerar a replicação do RNA viral favorecendo a progressão da aids (ORENDI *et al.*, 1994, ORENDI *et al.*, 1998; CHANG *et al.*, 2013).

A neurocriptococose é uma das doenças oportunistas com mais alta letalidade e demanda tratamento em regime hospitalar por longo período. Nas últimas décadas uma das estratégias que têm sido implantadas para o controle dessa doença é a triagem de antigenemia de *Cryptococcus* em todos os pacientes com imunossupressão grave ainda que assintomáticos, seguida pelo tratamento preemptivo com fluconazol daqueles com antigenemia isolada detectada (WHO, 2022). Esta estratégia reduz as complicações da doença e tem se mostrado custo-efetiva (RAJASINGHAM *et al.*, 2019). Todos os pacientes do grupo criptococose do estudo apresentavam manifestações clínicas de neurocriptococose, ou seja, a doença já estava instalada no SNC, não sendo possível avaliar se a antigenemia criptocócica isolada também representaria um risco para a falha imunológica após TARV. É possível que o tratamento da criptococose em um estágio mais precoce da doença pudesse favorecer a recuperação imunológica em comparação aos diagnosticados e tratados tardiamente.

Considerando que o tempo de uso da TARV é um fator importante para a recuperação imunológica (KROEZE *et al.*, 2018), um outro aspecto a ser considerado para a tendência de menor resposta no grupo com criptococose é a recomendação de se evitar introdução da TARV antes de duas até dez semanas do tratamento de indução da criptococose para evitar a síndrome inflamatória da reconstituição imunológica (WHO, 2022), o que pode ter ocorrido, mas não foi averiguado neste estudo.

Esse estudo tem outras limitações, como um número pequeno de casos que puderam ser acompanhados e o fato de que muitos pacientes de ambos os grupos não foram aderentes à TARV no seguimento. Além disso, para a definição de “uso regular da TARV” foram considerados o referido pelo paciente e a retirada regular dos medicamentos da farmácia, ambos não garantem o uso regular.

Os resultados encontrados apontam para a possibilidade da criptococose ser um fator associado a menores taxas de recuperação imunológica na aids e imunossupressão grave.

7 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo, realizado com pacientes com aids e imunossupressão grave, nas condições em que foi realizado, permite concluir que:

- Os grupos estudados apresentavam características demográficas e clínicas basais semelhantes, exceto pelo fato de que a neurotoxoplasmose foi mais frequente no grupo sem criptococose;
- A taxa de recuperação imunológica em até cinco anos no grupo com criptococose foi 19,0%, metade da observada no grupo sem criptococose, que foi de 38,8%, com uma tendência a significância estatística ($p=0,096$).
- Idade até 40 anos, resposta virológica e maior tempo de acompanhamento foram variáveis independentemente associadas a recuperação imunológica.
- Pacientes com criptococose apresentaram 3,61 (IC95% 0,90-14,53) vezes mais chance de falha na recuperação imunológica do que os pacientes sem criptococose, persistindo a tendência à significância estatística, mesmo após a análise multivariada ($p= 0,071$).
- A criptococose não impactou no tempo para atingir a recuperação imune e nem no tempo para óbito nos pacientes do estudo.

REFERÊNCIAS

OLIVEIRA, P. A. *et al.* HIV/AIDS-associated visceral leishmaniasis in patients from an endemic area in Central-west Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 5, p. 692-697, 2010.

ARECHAVALA, A. *et al.* Cryptococcosis in an infectious diseases hospital of Buenos Aires, Argentina. Revision of 2041 cases: Diagnosis, clinical features and therapeutics. **Rev Iberoam Micol**, v. 35, n. 1, p. 1-10, 2018.

BASSO, L. R. *et al.* Identification and properties of plasma membrane azole efflux pumps from the pathogenic fungi *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans*. **J Antimicrob Chemother**, v.70, n. 5, p. 1396-1407, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento da Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico HIV/Aids**, v. 20, n. 1 p. 3 - 18, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento da Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico HIV/Aids**, n.e., p.5, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento da Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico HIV/Aids**, n.e. p.10, 2021.

BRASIL. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento da Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais, 2018.

BRASIL. **Manual técnico para diagnóstico da sífilis**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento da Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids e das Hepatites Virais, 2016.

BOURGEOIS, N. *et al.* Long-term monitoring of visceral leishmaniasis in patients with AIDS: relapse risk factors, value of polymerase chain reaction, and potential impact on secondary prophylaxis. **J Acquir Immune Defic Syndr**, v. 48, n. 1, p. 13-19, 2008.

BRUNI, G. O. *et al.* Comparative proteomic analysis of Gib2 validating its adaptor function in *Cryptococcus neoformans*. **PLoS One**, v. 12, n. 7, p. e0180243, 2017.

BUTLER, E. K. *et al.* Long term 5-year survival of persons with cryptococcal meningitis or asymptomatic subclinical antigenemia in Uganda. **PLoS One**, v. 7, n. 12, p. e51291, 2012.

CANNON, R. D. *et al.* Efflux-mediated antifungal drug resistance. **Clin Microbiol Rev**, v. 22, n. 2, p. 291-321, 2009.

CHANG, C. C. *et al.* HIV and co-infections. **Immunol Rev**, v. 254, n. 1, p. 114-142, 2013.

COLOMBRINI, M. R. B. M.; FIGUEIREDO, R. M. Adesão à terapia anti-retroviral para HIV/AIDS. **Rev. Esc. Enferm. USP**, São Paulo, v. 40, n.4, p. 576-581, 2006.

DE AZAMBUJA, A. Z. *et al.* Cryptococcal Meningitis: A Retrospective cohort of a Brazilian reference hospital in the post-HAART era of universal access. **Can J Infect Dis Med Microbiol**, p. 6512468, 2018.

DEL POETA, M.; CHATURVEDI, V. Cryptococcus and cryptococcosis in the twenty-first century. **Mycopathologia**, v. 173, n. 5-6, p. 283-285, 2012.

DERBIE, A. *et al.* Cryptococcal antigenemia and its predictors among HIV infected patients in resource limited settings: a systematic review. **BMC Infect Dis**, v. 20, n. 1, p. 407, 2020.

DING, Y. *et al.* The CD4. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 36, n. 5, p. 897-904, 2017.

EISENMAN, H. C.; CASADEVALL, A.; MCCLELLAND, E. E. New insights on the pathogenesis of invasive *Cryptococcus neoformans* infection. **Curr Infect Dis Rep**, v. 9, n. 6, p. 457-464, 2007.

EL FANE M. *et al.* La 43rytococcoses au cours línfection à VIH. **J. Mycol. Méd.**, v. 25, p. 257-262, 2015.

FALCI, D.; BAY, M.; SPRINZ, E. Simplificação do tratamento anti-retroviral com a utilização de inibidor da protease reforçado com baixas doses de ritonavir como monoterapia de manutenção em indivíduos HIV positivos com supressão viral. **Tendências em HIV/AIDS**, São Paulo, v. 1., n. 1, p.24-27, 2006.

FERREIRA-PAIM, K. *et al.* MLST-Based population genetic analysis in a global context reveals clonality amongst *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* VNI Isolates from HIV patients in southeastern Brazil. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 11, n. 1, p. e0005223, 2017.

FIRACATIVE, C.; MEYER, W.; CASTAÑEDA, E. *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* species complexes in Latin America: a map of molecular types, genotypic diversity, and antifungal susceptibility as reported by the the latin american cryptococcal study group. **J Fungi (Basel)**, v. 7, n. 4, 2021.

FOCACCIA, R.; VERONESI, R. **Tratado de infectologia**. 3 ed. rev. e atual. São Paulo: Atheneu, 2007 p.111-113 e 238-239.

GASSIEP I. *et al.* infections over a 15 year period at a tertiary facility & impact of guideline management. **Mycoses**, v. 61, n. 9, p. 633-638, 2018.

HAGEN, F. *et al.* Importance of Resolving Fungal Nomenclature: the Case of Multiple Pathogenic Species in the. **mSphere**, v. 2, n. 4, 2017.

HENAO-MARTÍNEZ, A. F. BECKHAM, J. D. Cryptococcosis in solid organ transplant recipients. **Curr Opin Infect Dis**, v. 28, n. 4, p. 300-307, 2015.

- HEADLEY, S. A. *et al.* Pathologic, histochemical, and immunohistochemical findings in pulmonary and encephalitic cryptococcosis in a goat. **J Vet Diagn Invest**, v. 31, n. 1, p. 69-73, 2019.
- JARVIS, J. N. *et al.* Determinants of mortality in a combined cohort of 501 patients with HIV-associated Cryptococcal meningitis: implications for improving outcomes. **Clin Infect Dis**, v. 58, n. 5, p. 736-745, 2014.
- KROCKENBERGER, M. B. *et al.* Comparing immunochromatography with latex antigen agglutination testing for the diagnosis of cryptococcosis in cats, dogs and koalas. **Med Mycol**, v. 58, n. 1, p. 39-46, 2020.
- KROEZE, S. *et al.* Suboptimal immune recovery during antiretroviral therapy with sustained HIV suppression in sub-Saharan Africa. **AIDS**, v. 32, n. 8, p. 1043-1051, 2018.
- KRONSTAD, J. W. *et al.* Expanding fungal pathogenesis: *Cryptococcus* breaks out of the opportunistic box. **Nat Rev Microbiol**, v. 9, n. 3, p. 193-203, 2011.
- KWON-CHUNG, K. J. *et al.* The case for adopting the "species complex" nomenclature for the etiologic agents of cryptococcosis. **mSphere**, v. 2, n. 1 p. 200-206, 2017 .
- LAHIRI, S. *et al.* Clinical insights and epidemiology of central nervous system infection due to *Cryptococcus neoformans/gattii* species complexes: A prospective study from South India. **Med Mycol**, v. 58, n. 5, p. 600-608, 2020.
- LINDENBERG, A. E. S. *et al.* Clinical and epidemiological features of 123 cases of cryptococcosis in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 50, n. 2, p. 75-78, 2008.
- LORTHOLARY, O. *et al.* Long-term outcome of AIDS-associated cryptococcosis in the era of combination antiretroviral therapy. **AIDS**, v. 20, n. 17, p. 2183-2191, 2006.
- MACDOUGALL, L.; FYFE, M. Emergence of *Cryptococcus gattii* in a novel environment provides clues to its incubation period. **J Clin Microbiol**, v. 44, n. 5, p. 1851-1852, 2006.
- MARAIS, S. *et al.* Interleukin-17 mediated differences in the pathogenesis of HIV-1-associated tuberculous and cryptococcal meningitis. **AIDS**, v. 30, n. 3, p. 395-404, 2016.
- MAZIARZ, E. K.; PERFECT, J. R. Cryptococcosis. **Infect Dis Clin North Am**, v. 30, n. 1, p. 179-206, 2016.
- MENDICINO, C. C. P. *et al.* Immune recovery after antiretroviral therapy initiation: a challenge for people living with HIV in Brazil. **Cad Saude Publica**, v. 37, n. 9, p. e00143520, 2021.
- MITCHEL, T. G.; PERFECT J. R. Cryptococcosis in the era of AIDS- 100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. **Clin Microbiol Rev**, v. 8. n. 5, p. 515-548, 1995.
- MORETTI, M. L. *et al.* Guidelines in cryptococcosis--2008. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 41, n. 5, p. 524-544, 2008.

MOURAD, A.; PERFECT, J. R. Present and Future Therapy of. **J Fungi (Basel)**, v. 4, n. 3, e. 20180703, 2018.

NEGRI, A. C. G. **Antigenemia criptocócica em pacientes com aids e imunossupressão grave**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2020.

NOGUERA, M. C.; ESCANDÓN, P.; CASTAÑEDA, E. Cryptococcosis in Atlántico, Colombia: an approximation of the prevalence of this mycosis and the distribution of the etiological agent in the environment. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 48, n. 5, p. 580-586, 2015.

NOSANCHUK, J. D.; CASADEVALL, A. Impact of melanin on microbial virulence and clinical resistance to antimicrobial compounds. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 50, n. 11, p. 3519-3528, 2006.

NUNES, J. O. *et al.* Cryptococcal meningitis epidemiology: 17 years of experience in a State of the Brazilian Pantanal. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 51, n. 4, p. 485-492, 2018.

ORENDI, J. M. *et al.* Enhancement of HIV-1 replication in peripheral blood mononuclear cells by *Cryptococcus neoformans* is monocyte-dependent but tumour necrosis factor-independent. **AIDS**, v. 8, n. 4, p. 423-429, 1994.

ORENDI, J. M. *et al.* Mannoproteins of *Cryptococcus neoformans* induce proliferative response in human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and enhance HIV-1 replication. **Clin Exp Immunol**, v. 107, n. 2, p. 293-299, 1997.

PAPPALARDO, M. C.; MELHEM, M. S. Cryptococcosis: a review of the Brazilian experience for the disease. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 45, n. 6, p. 299-305, 2003.

PARK, B. *et al.* Estimation of the current global of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. **AIDS**, v. 23, n. 4, p. 525-530, 2009.

PERFECT, J. R.; CASADEVALL, A. Cryptococcosis. **Infect Dis Clin North Am**, v. 16, n. 4, p. 837-874, 2002.

PERFECT, J. R. *et al.* Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of america. **Clin Infect Dis**, v. 50, n. 3, p. 291-322, 2010.

RAJASINGHAM, R. *et al.* Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. **Lancet Infect Dis**, v. 17, n. 8, p. 873-881, 2017.

RAJASINGHAM, R. *et al.* Evaluation of a national cryptococcal antigen screening program for HIV-infected patients in Uganda: A cost-effectiveness modeling analysis. **PLoS One**, v. 14, n. 1, p. e0210105, 2019.

ROBERT R.; NAIL-BIKLAUD S.; CLEMENTA N. Les tests de diagnostic rapide em mycologie médicale. **Rev. Francoph. Lab**, v. 2015 n. 474, p. 37-44, 2015.

- RHODES, J. *et al.* Tracing Genetic Exchange and Biogeography of. **Genetics**, v. 207, n. 1, p. 327-346, 2017.
- ROCHA, D. F. S. *et al.* MLST reveals a clonal population structure for *Cryptococcus neoformans* molecular type VNI isolates from clinical sources in Amazonas, Northern-Brazil. **PLoS One**, v. 13, n. 6, p. e0197841, 2018.
- SEVERO, C. B.; GAZZONI, A. F.; SEVERO, L. C. Criptococose Pulmonar. **Jornal brasileiro de pneumologia**, v. 35, n. 11, p. 1136- 1144, 2009.
- SANTOS, M. A. *et al.* Monitoring self-reported adherence to antiretroviral therapy in public HIV care facilities in Brazil: A national cross-sectional study. **Medicine (Baltimore)**, v. 97, n. 1, Suppl 1, p. S38-S45, 2018.
- SHAUNAK, S.; SCHELL, W. A.; PERFECT, J. R. Cryptococcal meningitis with normal cerebrospinal fluid. **J Infect Dis**, v. 160, n. 5, p. 912, 1989.
- SIAFAKAS, A. R. *et al.* Cell wall-linked cryptococcal phospholipase B1 is a source of secreted enzyme and a determinant of cell wall integrity. **J Biol Chem**, v. 282, n. 52, p. 37508-37514, 2007.
- SRIKANTA, D.; SANTIAGO-TIRADO, F. H.; DOERING, T. L. *Cryptococcus neoformans*: historical curiosity to modern pathogen. **Yeast**, v. 31, n. 2, p. 47-60, 2014.
- TORRES, R. G. *et al.* Cryptococcosis in acquired immunodeficiency syndrome patients clinically confirmed and/or diagnosed at necropsy in a teaching hospital in Brazil. **Am J Trop Med Hyg**, v. 95, n. 4, p. 781-785, 2016.
- TRILLES, L. *et al.* Regional pattern of the molecular types of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 5, p. 455-462, 2008.
- VIDAL, J. E.; BOULWARE, D. R. Lateral flow assay for cryptococcal antigen: an important advance to improve the continuum of HIV care and reduce cryptococcal meningitis-related mortality. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 57, Suppl 19, p. 38-45, 2015.
- WANG J., BARTELT L.; YU D.; JOSHI A.; WEINBAUM.; PIERSON T.; PATRIZIO M.; WARREN C. A.; HUGHES M. A.; DONOWITZ D. Primary cutaneous cryptococcosis created with debridement and fluconazole monotherapy in an immunosuppressed patient: case report and review of the literature. **Infect. Dis**, v. 2015, ARTICLE ID 131356, p. 1- 8, 2015.
- WILLIAMS, D. A. *et al.* Evaluation of fingerstick cryptococcal antigen lateral flow assay in HIV-infected persons: a diagnostic accuracy study. **Clin Infect Dis**, v. 61, n. 3, p. 464-467, 2015.
- WILLIAMSON, P. R. The relentless march of cryptococcal meningitis. **Lancet Infect Dis**, v. 17, n. 8, p. 790-791, 2017.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV- infected adults, adolescents and children:**

supplement to the 2016 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Geneva: WHO, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the diagnosing, preventing and managing cryptococcal disease among adults, adolescents and children living with HIV.** Geneva: WHO, 2022.

YANG, X. *et al.* Incomplete immune reconstitution in HIV/AIDS patients on antiretroviral therapy: challenges of immunological non-responders. **J Leukoc Biol**, v. 107, n. 4, p. 597-612, 2020.

ZARAGOZA, O. *et al.* Capsule enlargement in *Cryptococcus neoformans* confers resistance to oxidative stress suggesting a mechanism for intracellular survival. **Cell Microbiol**, v. 10, n. 10, p. 2043-2057, 2008.

APÊNDICE A

FORMULÁRIO PADRÃO DE COLETA DE DADOS PARA A PESQUISA: IMPACTO DA CRIPTOCOCOSE NA RECUPERAÇÃO IMUNOLÓGICA DE PACIENTES COM AIDS E IMUNOSSUPRESSÃO GRAVE.

DADOS DE ENTRADA – ID _____

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO E DEMOGRÁFICOS:

SEXO:_____ IDADE:_____ DATA NASCIMENTO:_____

COR:_____ (branco, preto, pardo, amarelo, índio)

PROFISSÃO ATUAL:_____ INSTRUÇÃO:_____

NATURALIDADE:_____ UF_____

PROCEDENCIA:_____ UF_____

DATA DO DIAGNÓSTICO DE HIV:

USO DE TARV_ (___) SIM; (___) Não. Data de Início da TARV:_____

DATA DA ENTRADA NO ESTUDO:_____

DADOS LABORATORIAIS:

RESULTADO DO CRAG TESTE DO ANTÍGENO CRIPTOCÓCICO) () POS () NEG

CRIPTOCOCOSE CONFIRMADA ()SIM ()NÃO

EXAME DIRETO () CULTIVO MICOLÓGICO () HISTOPATOLÓGICO ()

MATERIAL: LCR () ESCARRO () URINA ()

SEGUIMENTO DE CV, CD4

DATA	CV	CD4	CD8	CD45

ACOMPANHAMENTO CLÍNICO:

INTERNAÇÃO ()SIM () NÃO ; DATA_____ DATA ALTA _____
ÓBITO () SIM () NÃO DATA DO ÓBITO:_____ CAUSA DO
ÓBITO:_____
RECUPERAÇÃO IMUNOLÓGICA ()SIM (NÃO); DATA _____
PERDA DE SEGUIMENTO () SIM () NÃO; DATA DA ÚLTIMA AVALIAÇÃO

TEMPO DE SEGUIMENTO, EM MESES: _____