

Micoses sistêmicas oportunistas

Candida spp. e Cryptococcus spp.

Kelly Ishida

E-mail: ishidakelly@usp.br

Classificação das micoses

Micose	Tecido	Espécies
Superficial	Extrato córneo do tecido epitelial, pelo e cabelo	<i>Malassezia furfur</i> <i>Hortaea werneckii</i> <i>Piedraia hortae</i> <i>Trichosporon</i> spp.
Cutânea	Porções queratinizadas da pele, pelo e cabelo	<i>Trichophyton</i> spp. <i>Microsporum</i> spp. <i>Epidermophyton floccosum</i>
Subcutânea	Derme, músculos e tecido conjuntivo	<i>Sporothrix</i> spp. <i>Fonsecaea pedrosoi</i> e outras espécies
Sistêmica	Inicia-se com uma infecção pulmonar podendo atingir qualquer órgão	<i>Paracoccidioides</i> spp. <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Coccidioides immitis</i>
Sistêmica Oportunista	Qualquer tecido	<i>Candida</i> spp. <i>Cryptococcus</i> spp. <i>Pneumocystis jirovecii</i> <i>Aspergillus</i> spp. <i>Fusarium</i> spp. <i>Rhizopus</i> spp., <i>Murcor</i> spp.

- 1,7 bilhões de pessoas – Infecções fúngicas
- 1-2 milhões de pessoas - Infecções fúngicas invasivas
- Altas taxas de mortalidade

Table 1. Statistics of the 10 most significant invasive fungal infections.

Disease (most common species)	Location	Estimated life-threatening infections/ year at that location*	Mortality rates (% in infected populations)*
Opportunistic invasive mycoses			
Aspergillosis (<i>Aspergillus fumigatus</i>)	Worldwide	>200,000	30–95
Candidiasis (<i>Candida albicans</i>)	Worldwide	>400,000	46–75
Cryptococcosis (<i>Cryptococcus neoformans</i>)	Worldwide	>1,000,000	20–70
Mucormycosis (<i>Rhizopus oryzae</i>)	Worldwide	>10,000	30–90
Pneumocystis (<i>Pneumocystis jirovecii</i>)	Worldwide	>400,000	20–80
Endemic dimorphic mycoses*†			
Blastomycosis (<i>Blastomyces dermatitidis</i>)	Midwestern and Atlantic United States	~3,000	<2–68
Coccidioidomycosis (<i>Coccidioides immitis</i>)	Southwestern United States	~25,000	<1–70
Histoplasmosis (<i>Histoplasma capsulatum</i>)	Midwestern United States	~25,000	28–50
Paracoccidioidomycosis (<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>)	Brazil	~4,000	5–27
Penicilliosis (<i>Penicillium marneffeii</i>)	Southeast Asia	>8,000	2–75

*Most of these figures are estimates based on available data, and the logic behind these estimates can be found in the text and in the Supplementary Materials. †Endemic dimorphic mycoses can occur at many locations throughout the world. However, data for most of those locations are severely limited. For these mycoses, we have estimated the infections per year and the mortality at a specific location, where the most data are available.

Infecções Fúngicas Oportunistas

São causadas por fungos que, normalmente, não são infectantes e se aproveitam de alterações nas condições imunológicas e/ou fisiológicas do hospedeiro para causarem as doenças.

***Candida* spp.**
***Cryptococcus* spp.** } Fungos leveduriformes

***Aspergillus* spp.**
***Fusarium* spp.**
Zigomycetes } Fungos filamentosos

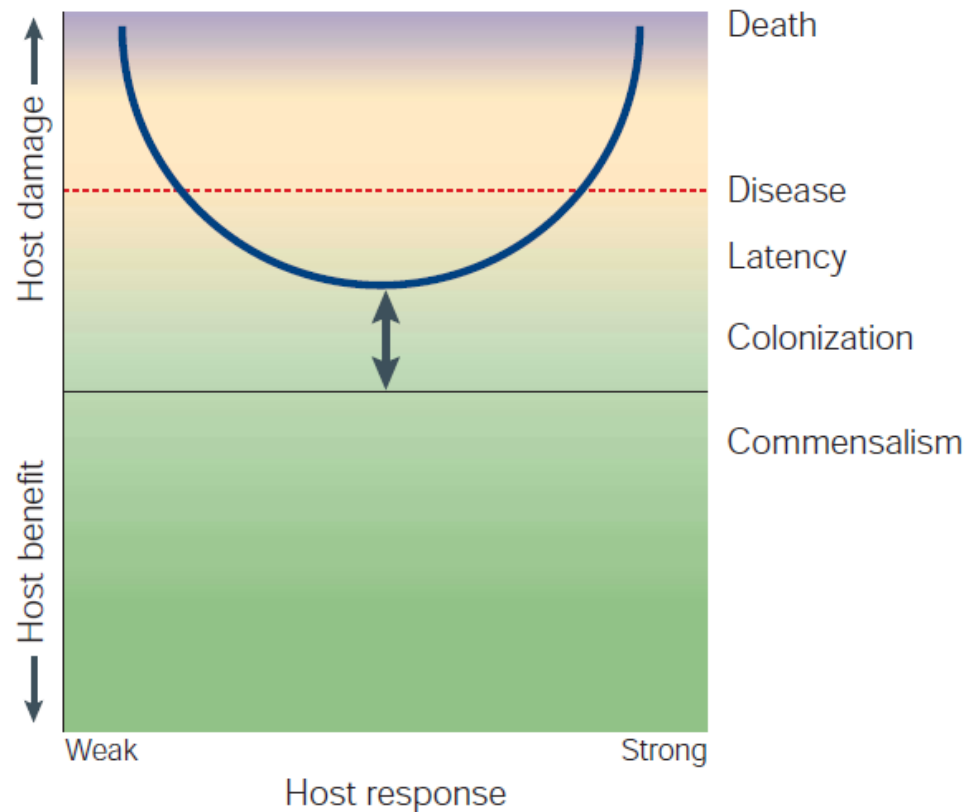
Infecções Fúngicas

Infecção x doença

Infecção – colonização de um agente infeccioso.

Doença (do latim *dolentia*, padecimento) - distúrbio das funções de um órgão, da psique ou do organismo como um todo que está associado a sintomas específicos.

A doença ocorre quando o organismo não conseguir mais manter a homeostase.



Sistema imunológico
X

Fatores de virulência



**Transplante de
órgãos e
medula óssea**



**Quimioterapia
imunossupressora**



**Antibacteriano de
amplo espectro e
corticosteróides**

Fatores predisponentes



**Infecção
HIV**



Diabetes



Gravidez

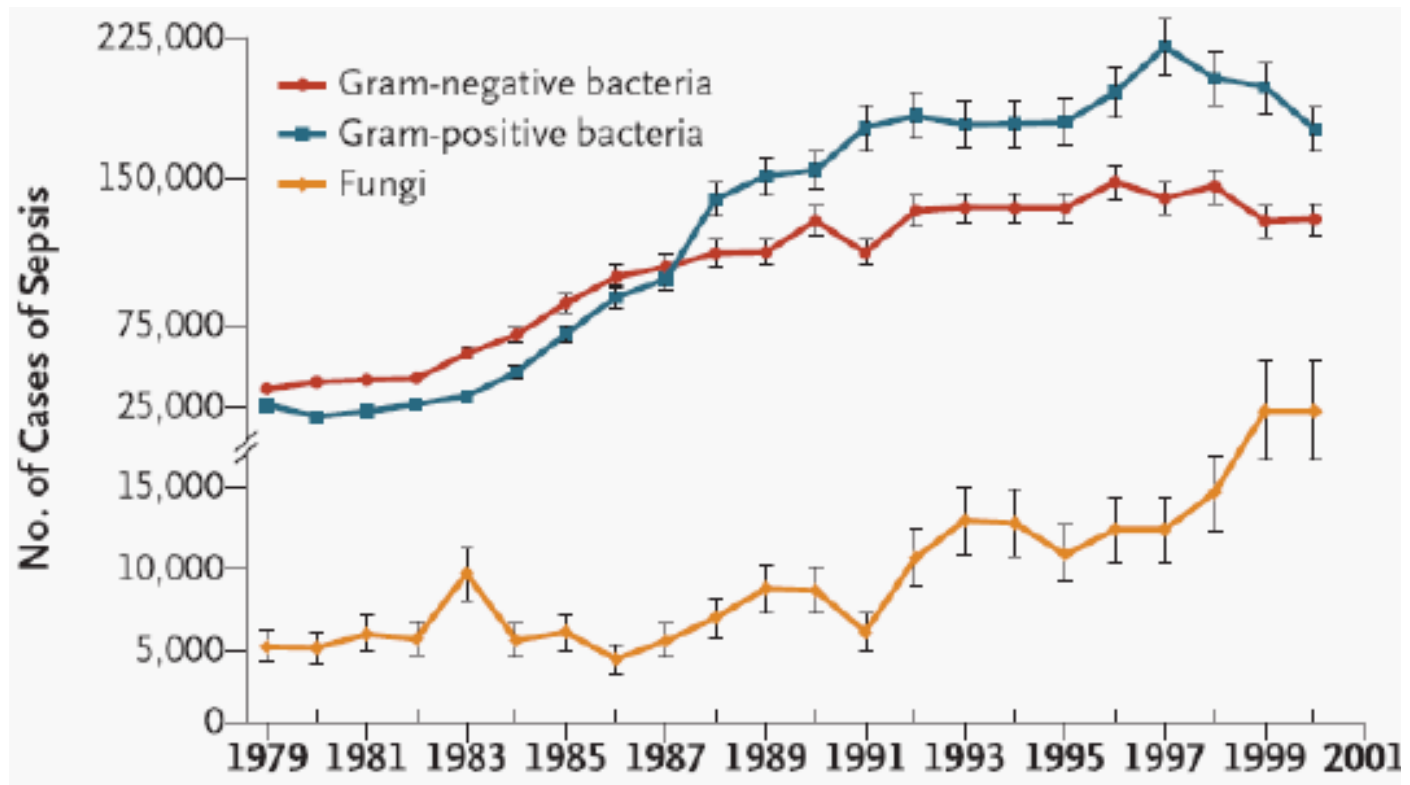


**Anticoncepcionais
de alta dosagem**

Cenário Atual dos Pacientes:

- ↑ pacientes HIV+
- Transplantados de MO e órgãos sólidos
- Uso de substâncias imunossupressoras
- Neoplasias → Quimioterapia
- Uso de instrumentos médicos invasivos
 - UTI (cateter, sondas, respirador, próteses...)
- Aumento da prematuridade e longevidade
- Uso de antibióticos de amplo espectro

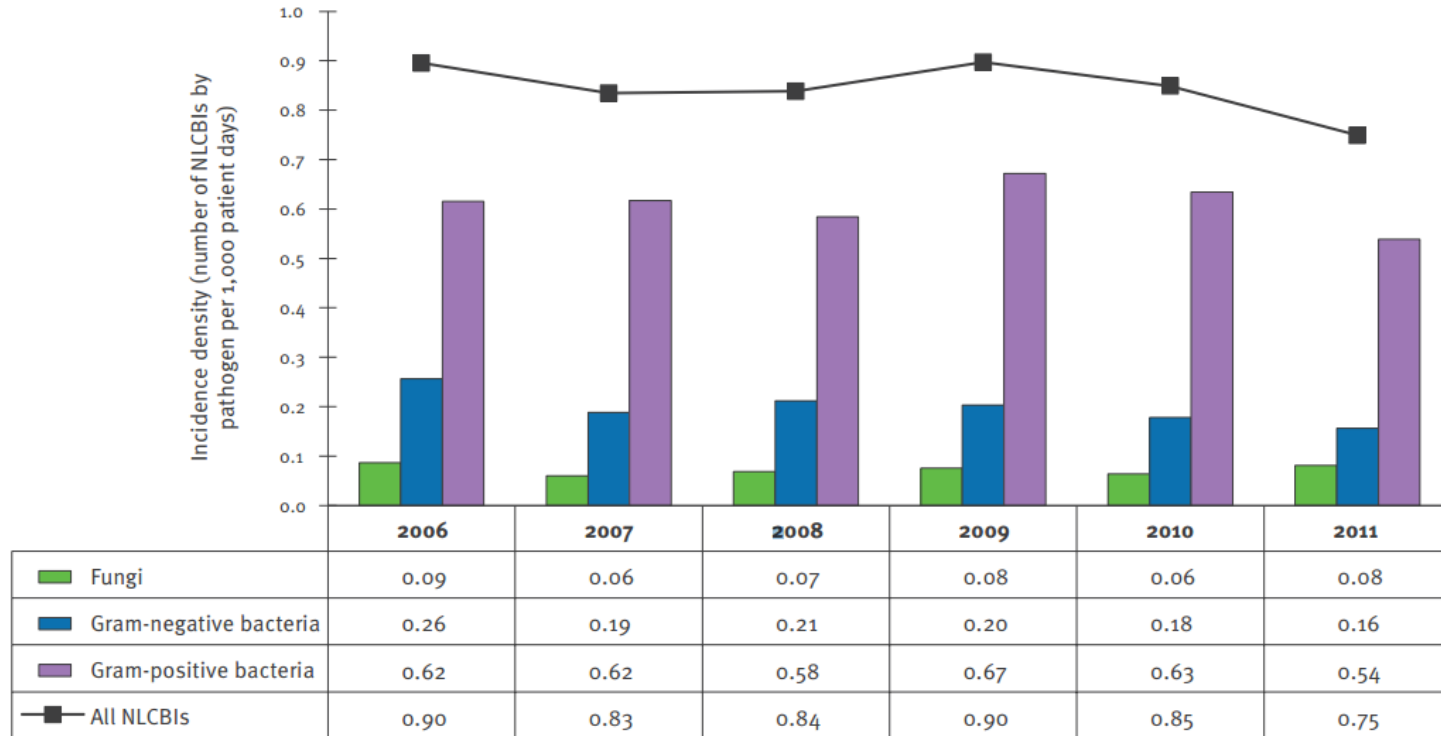
Infecções na corrente sanguínea



Martin et al., 2003. NEJM 348: 1546-1554, 2003.

FIGURE 1

Mean incidence density of all nosocomial primary laboratory-confirmed bloodstream infections (n=6,666) and associated microorganisms (n=7,453) in 682 intensive care units, Germany, 2006–2011



NLCBIs: nosocomial laboratory-confirmed bloodstream infections.

Gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus* spp., *Corynebacterium* spp.

Gram-negative bacteria: *Haemophilus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., other *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter* spp., *Bacteroides* spp., *Legionella* spp.

Fungi: *Candida albicans*, non-*albicans* *Candida* spp., *Aspergillus* spp., other fungi.

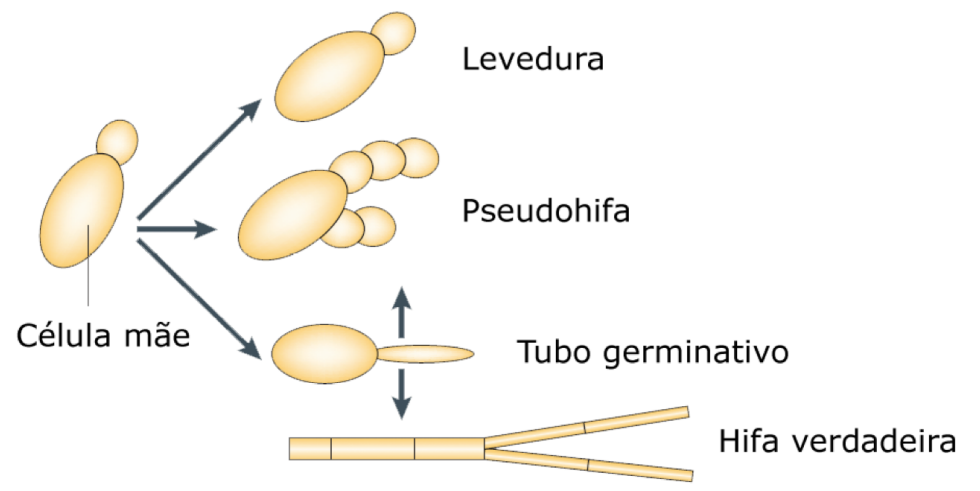
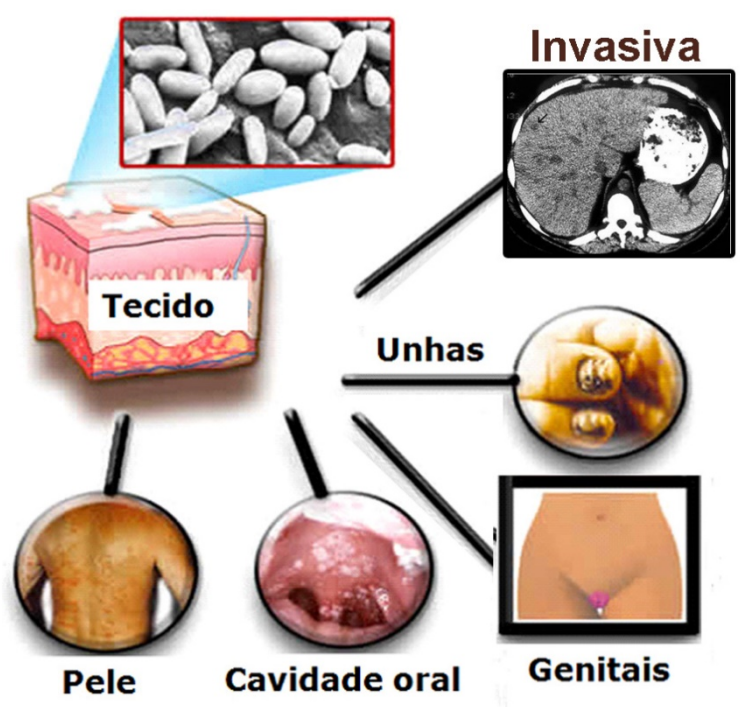
Meyer et al. No increase in primary nosocomial candidemia in 682 German intensive care units during 2006 to 2011. Surveillance and outbreak reports, p. 1-8, 2013.

Candidíasis

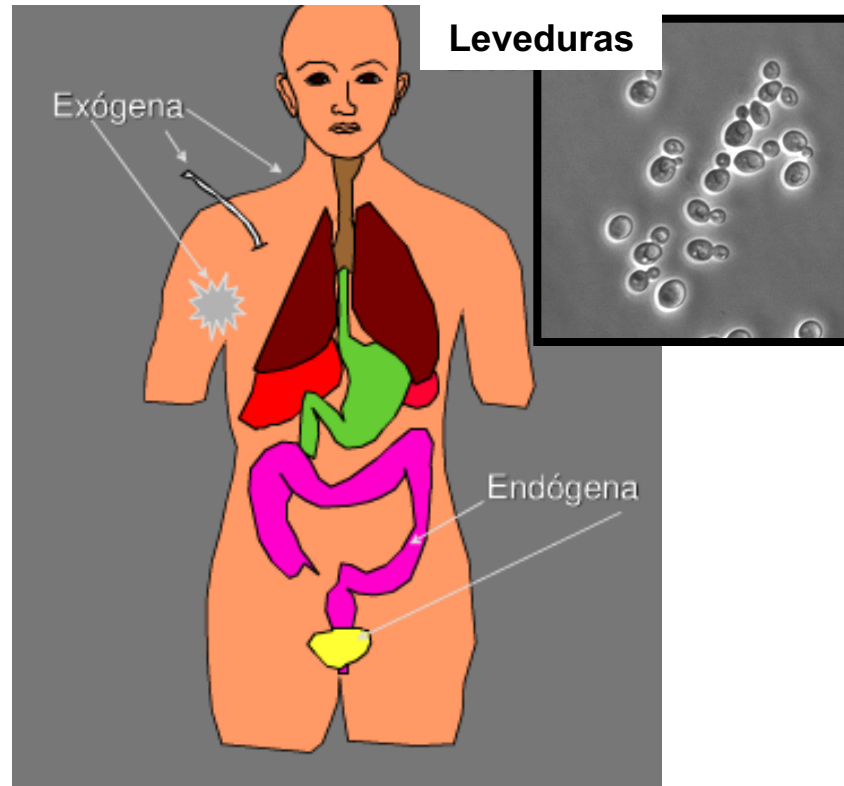
Candida spp.

- Levedura comensal
- Temperatura: 20-38 °C
- pH: 2,5 – 7,5

- Candida albicans*
- Candida tropicalis*
- Candida parapsilosis*
- Candida glabrata*
- Candida krusei*
- Candida dubliniensis*
- Candida guilliermondii*
- Candida lusitaneae*



Transmissão



Endógena – faz parte da microbiota humana
Exógena – ambiente (ar, água, alimentos, contato inter-humano)

Epidemiologia

- 85 – 95% dos indivíduos – colonização do tecido epitelial
- 75% das mulheres - pelo menos 1 episódio de Candidíase vulvovaginal
- Aumento da incidência com a AIDS (1980)
 - 75% HIV/AIDS Candidíase orofaríngea
 - Atualmente somente a candidíase esofágica pertence ao grupo das infecções oportunistas que são consideradas altamente sugestivas de AIDS
 - Candidíase oral em crianças com HIV – primeira manifestação de AIDS
 - Atualmente com a terapia antiretroviral (HAART) – diminuição da candidíase

- 4ª Causa de infecções hospitalares
 - 1: Estafilococos coagulase negativa
 - 2: *Staphylococcus aureus*
 - 3: *Klebsiella pneumoniae*
- Mortalidade em 40-70% dos casos de Candidemia

Espécie mais freqüente: *Candida albicans*

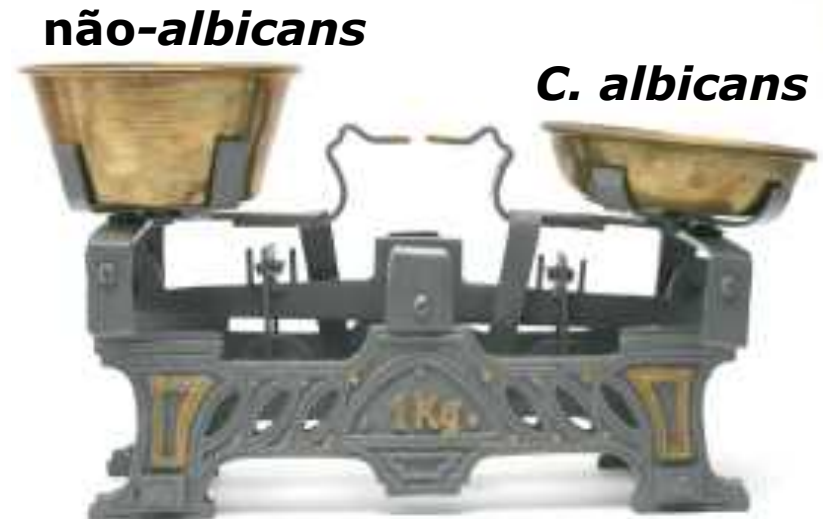
Candidíase invasiva - > 50%

Candidíase vulvovaginal – 85 a 95 %

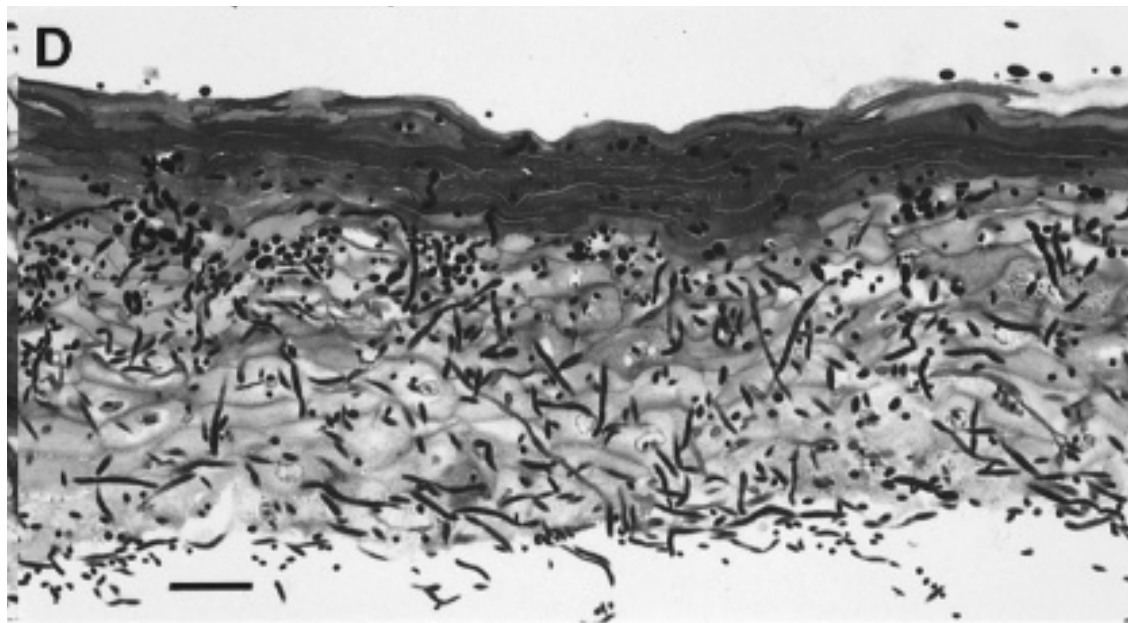
Perfil epidemiológico de infecções por *Candida* spp. está mudando...

C. krusei - resistência intrínseca

C. glabrata - menos sensível

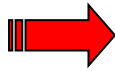
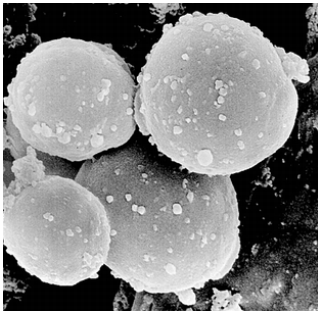


Virulência fúngica e Patogênese



Mecanismos de Invasão tecidual

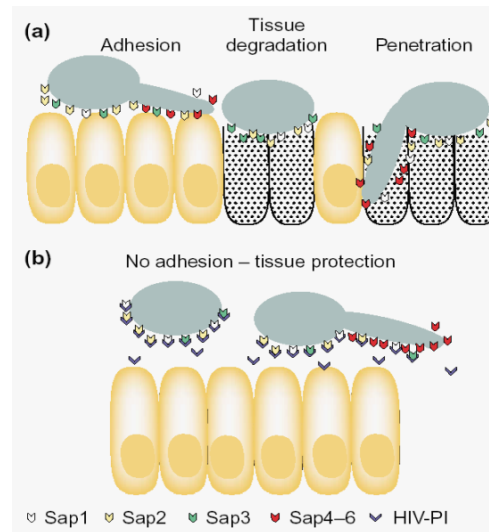
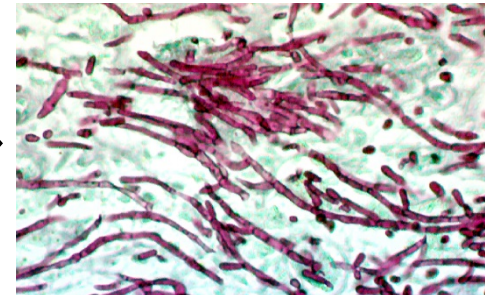
Levedura



Tubo germinal



Hifa



Adesinas

Secreção enzimas hidrolíticas:

“proteinasas” (SAPs)

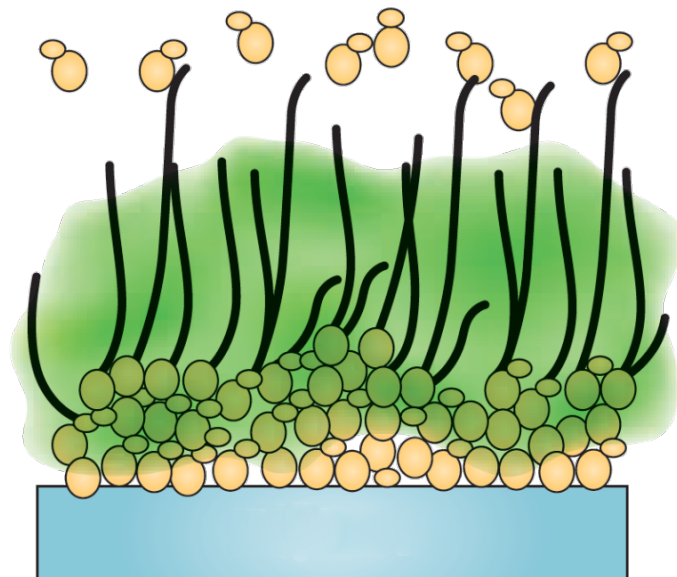
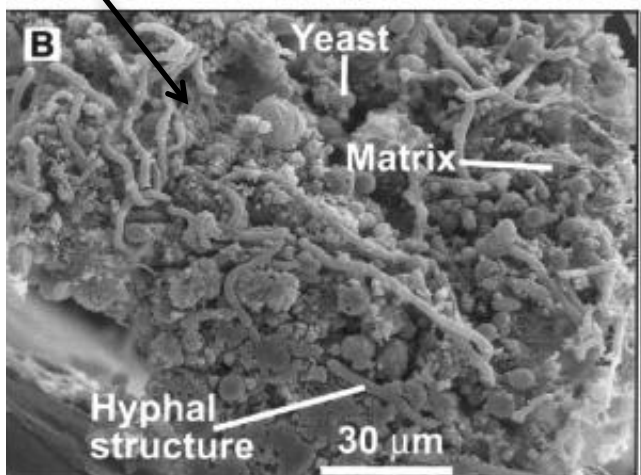
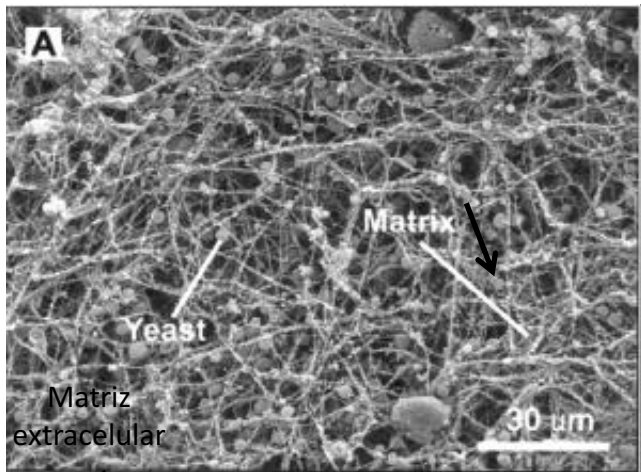
fosfolipases



Invasão tecidual

Capacidade de formar biofilme em superfícies abióticas e bióticas

Comunidade microbiana de células aderidas à um substrato e embebidas em uma matriz extracelular polimérica, com um fenótipo alterado em relação às células planctônicas.

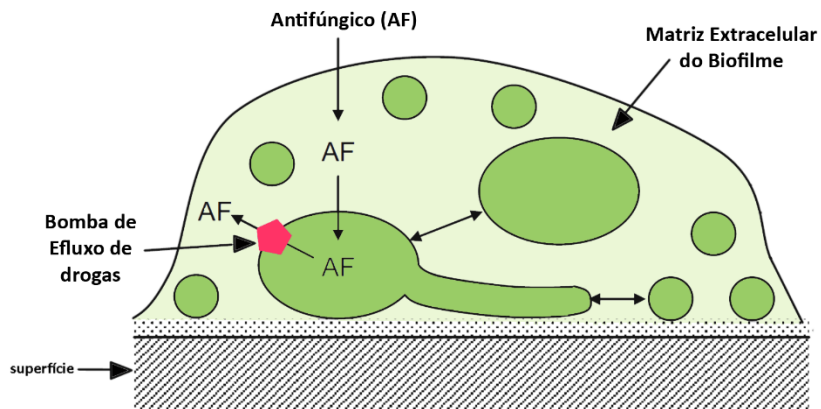


FINKEL JS, Nature Review Microbiology, v.9, n.2, 2011

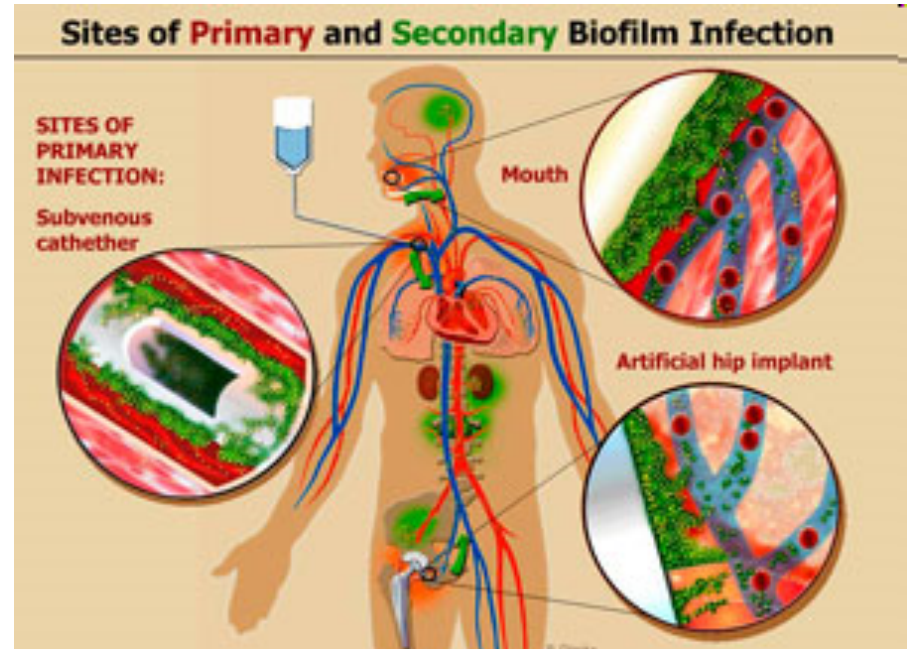
Porque o biofilme é tão importante?

RESISTÊNCIA! Azóis e anfotericina B

- Matriz extracelular
- Bombas de efluxo (CDR / MDR)
- Redução de ergosterol na membrana



MASAKAZU N et al., *Odontology*, 2010

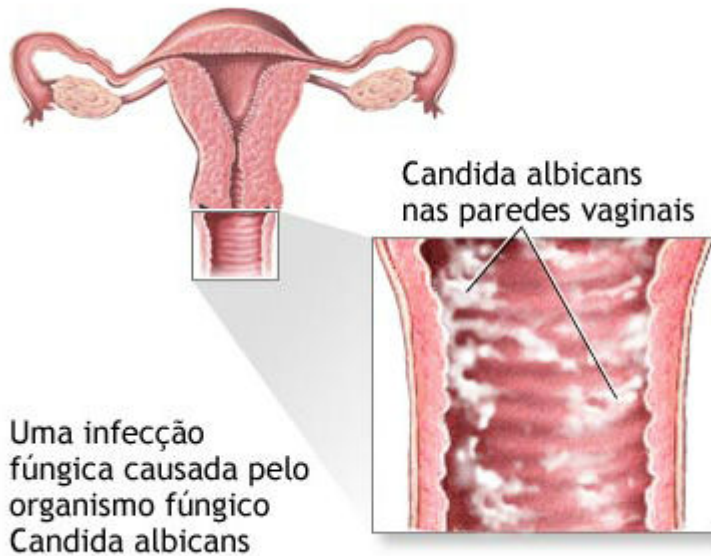


<http://bacteriality.com/2008/05/26/biofilm/>

Manifestações clínicas – cutânea/mucocutânea

- **Vulvovaginite/balanite**
 - **Candidíase oral**
- **Candidíase intertriginosa**
 - **Onicomiose**

- **Vulvovaginite:** lesões pruriginosas com leucorréia e sensação de queimadura. Comum em mulheres grávidas e diabéticas



- **Candidíase oral:** formação de placas brancas na mucosa oral e cantos dos lábios (sapinho).
Comum em recém-natos, diabetes, HIV+, uso de próteses dentárias, etc



Pseudomembranosa -
hálito fétido e placas
brancas destacáveis,
sensação de ardência e
queimação



Eritematosa – língua
avermelhada e queimação



**Multifocal crônica
Hiperplásica** -
características das duas
citadas



Quelite angular

- **Candidíase intertriginosa:** lesões eritematosas localizadas nas dobras da pele: axilas, região submamária, interglútea, perianal, espaços interdigitais, etc. Comum em obesos e crianças que usam fraldas



- **Onicomiose:** lesões na unha e região periungueal, que se apresenta edemaciada.
 - Micoses de lavadeira



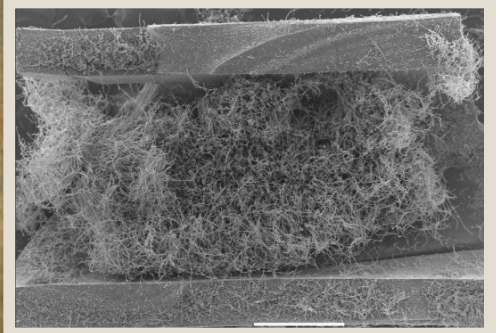
• **Candidíase disseminada**

- Ocorre em mais de 80% dos pacientes HIV+, como primeira infecção oportunista.
- Estão relacionadas com a deficiência imunológica – acometendo os pacientes das unidades de cancerologia, hematologia e UTIs.
- Formas clínicas mais freqüentes são candidíase esofágica e pulmonar
- ↓ prognóstico

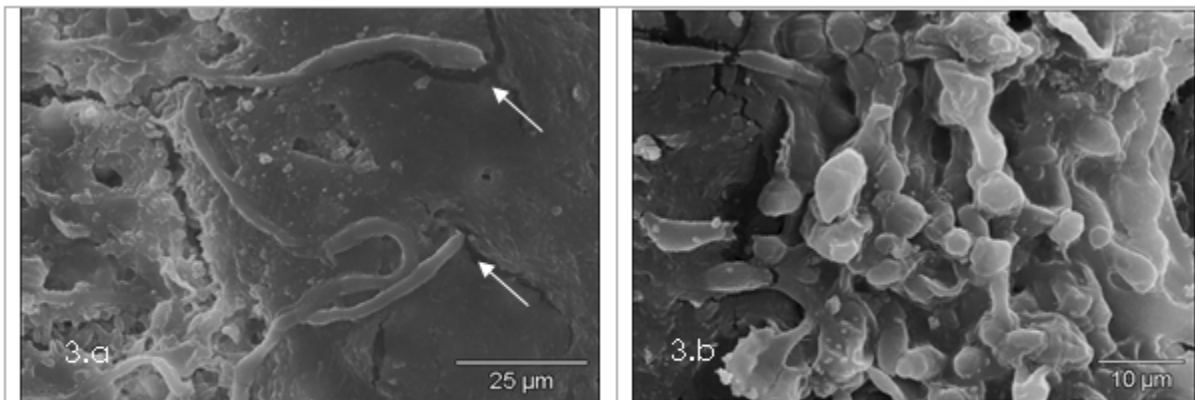


Esofagite com múltiplas placas esbranquiçadas e discreto edema ao redor de toda a circunferência do órgão.

- **Candidemia** – sinal de candidíase disseminada
 - Fontes de fungo: infecção muco/cutânea e contaminação de dispositivos hospitalar, ex. cateter e sondas



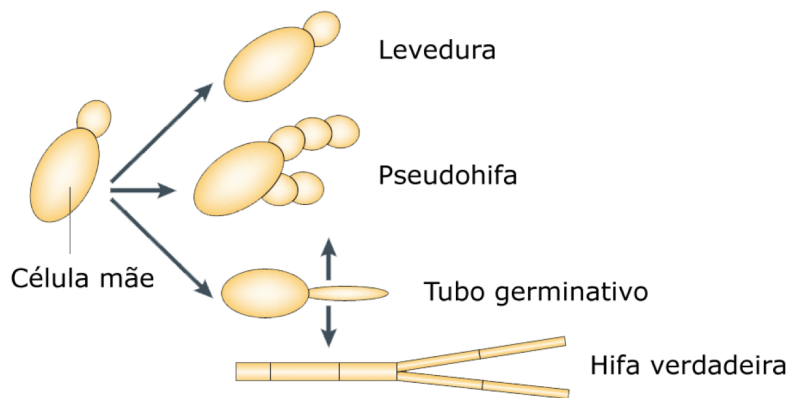
Cateter



Prótese dentária

Diagnóstico Laboratorial

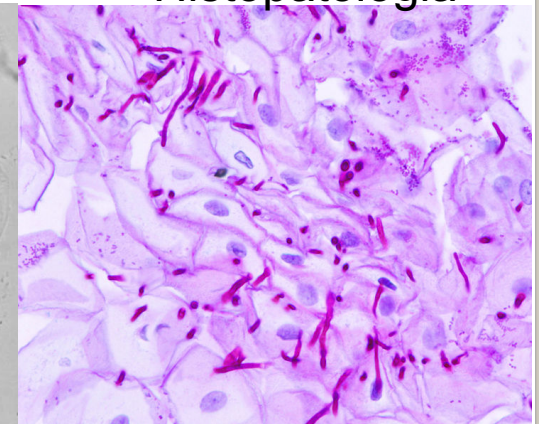
- **Material:** Pele e unha, Urina, Escarro e lavado broncoalveolar, líquido, fluido pleural e sangue, Biópsia de diferentes órgãos, Cateteres,
- **Exame direto:** KOH 10-20%, coloração de Gram
 - Em caso de invasão tecidual, *Candida albicans* pode formar tubos germinativos que vão gerar formas filamentosas (hifas verdadeiras e pseudohifas).
- **Histopatologia** – colorações de biópsia (HE e PAS)



Direto

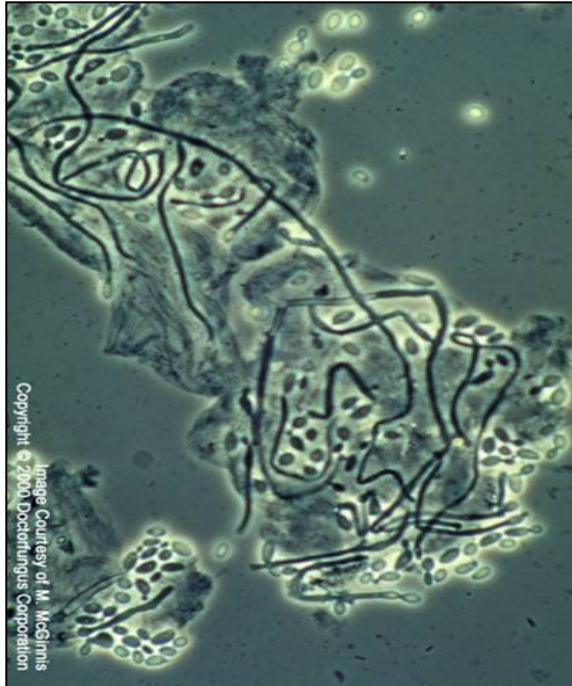


Histopatologia

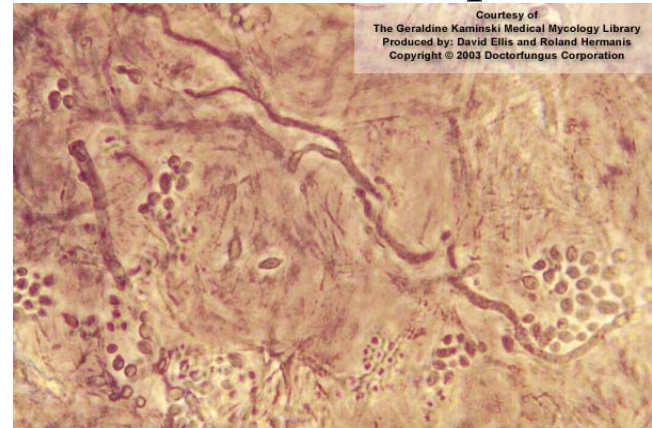


Exame direto

Exame direto: mucosa oral



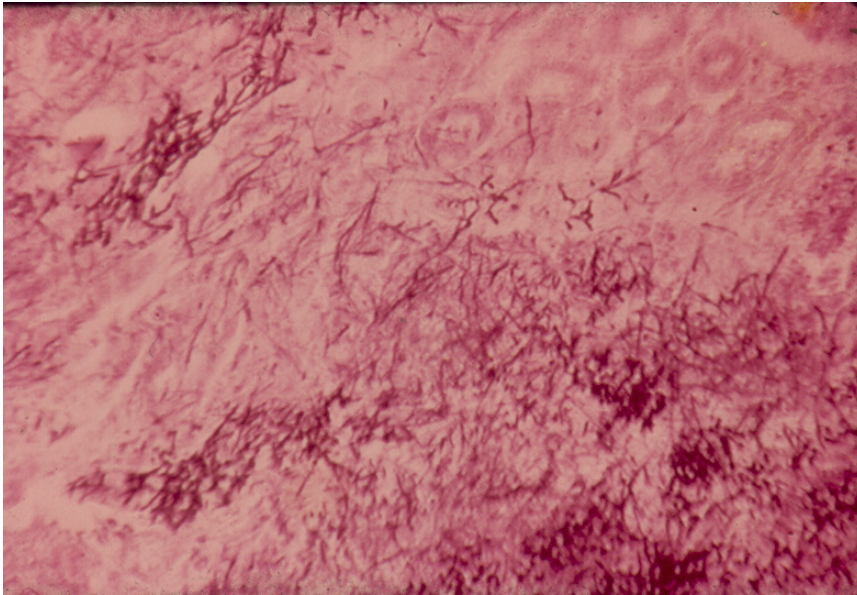
Exame direto: pele



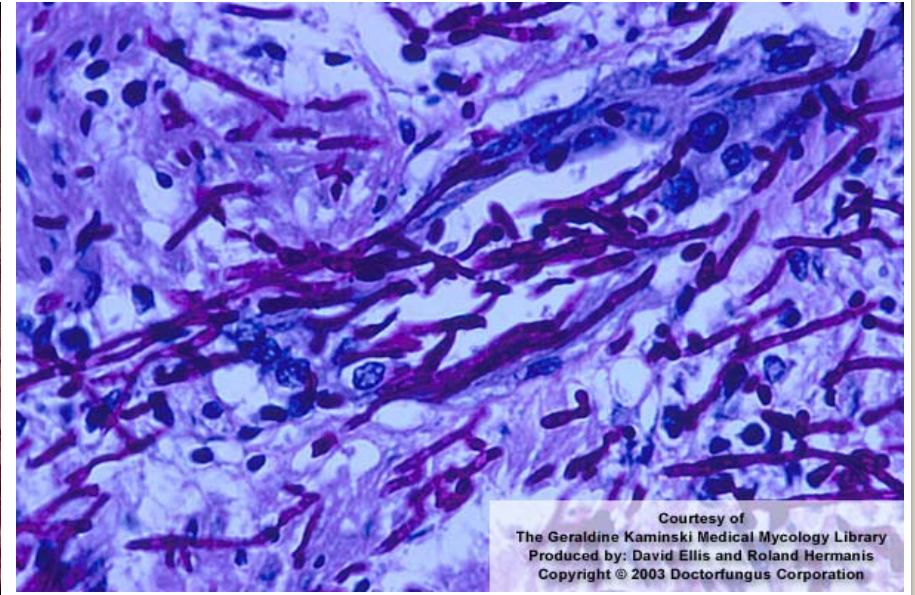
Exame direto: vagina



Histopatológico material de biópsia



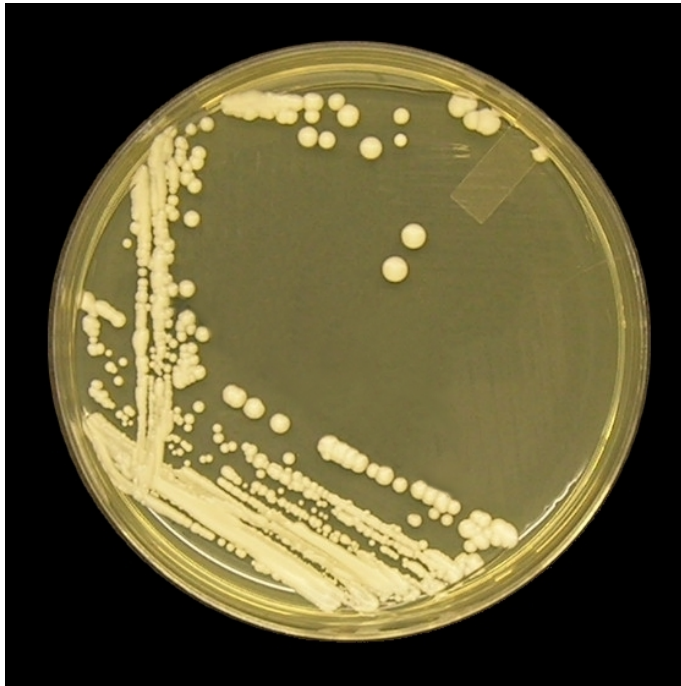
Coloração: H&E



Coloração: PAS

- **Cultura**

- Ágar Sabouraud dextrose



SDA: creme e opaca



Courtesy of
The Geraldine Kaminski Medical Mycology Library
Produced by: David Ellis and Roland Hermanis
Copyright © 2003 Doctorfungus Corporation

CHROMagar *Candida*

YEAST

C. tropicalis *C. albicans*

C. parapsilosis

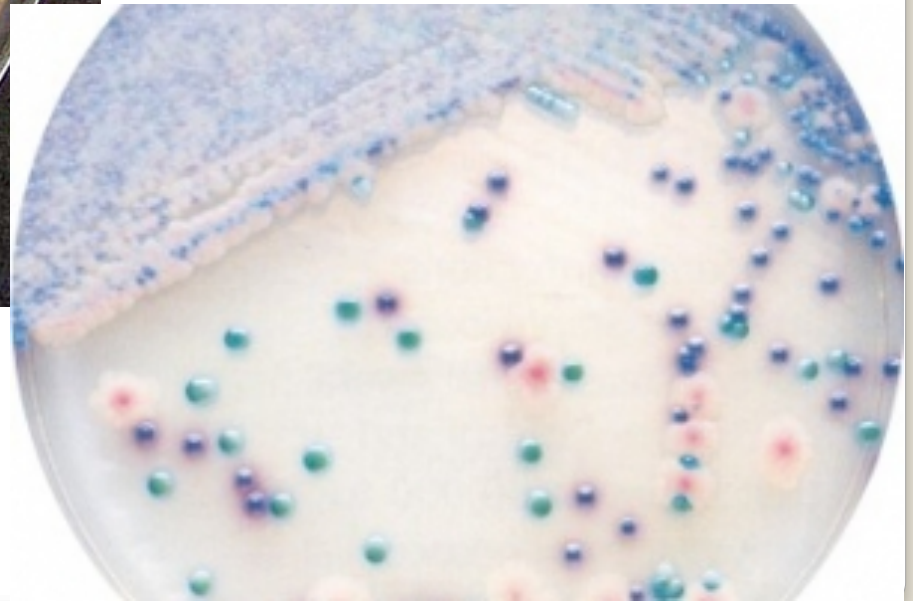
C. glabrata
(*C. krusei*)

Cultura

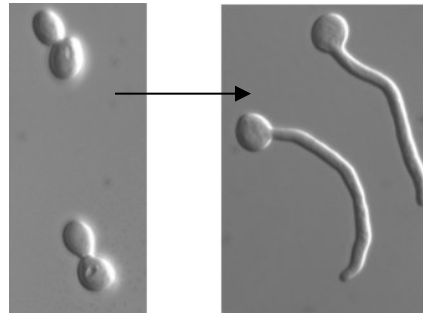
- Meios de cultura seletivo e diferencial

Ex. **Chromagar *Candida***

- Permite isolamento de mais de uma espécie
- Identificação presuntiva

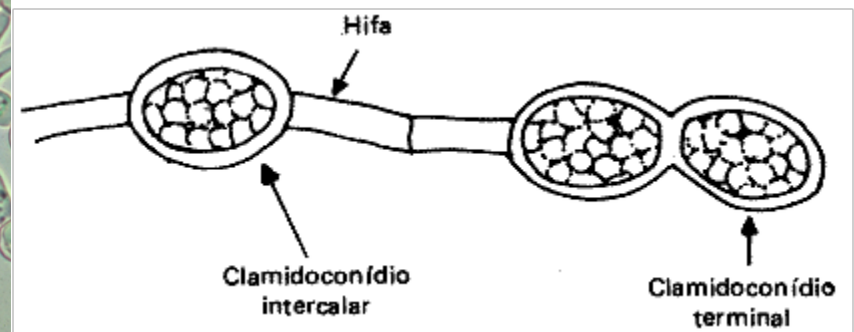


- **Testes para identificação das espécies:**
 - **Teste do tubo germinativo** – leveduras em SFB por 3 h a 37 °C



Candida albicans

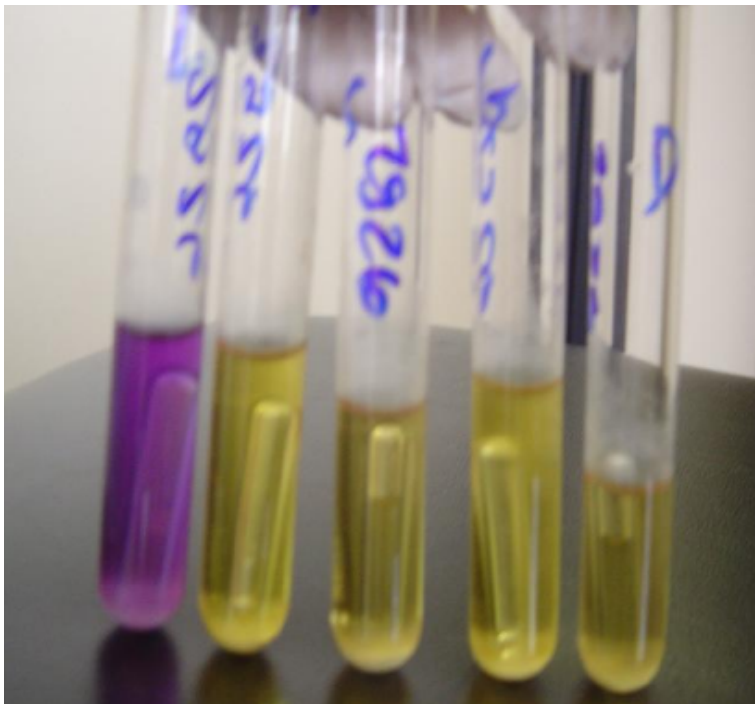
- **Micromorfologia – microcultivo em Lâmina – ágar fubá**



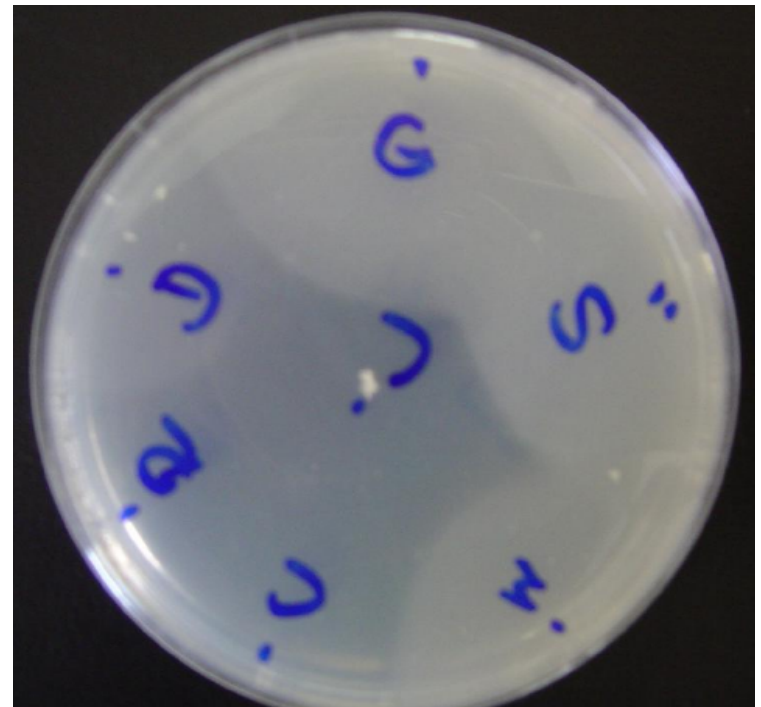
Candida albicans

- **Testes para identificação das espécies:**
Provas bioquímicas

Zimograma - Fermentação
de carboidratos



Auxanograma - Assimilação
de fontes de C e N



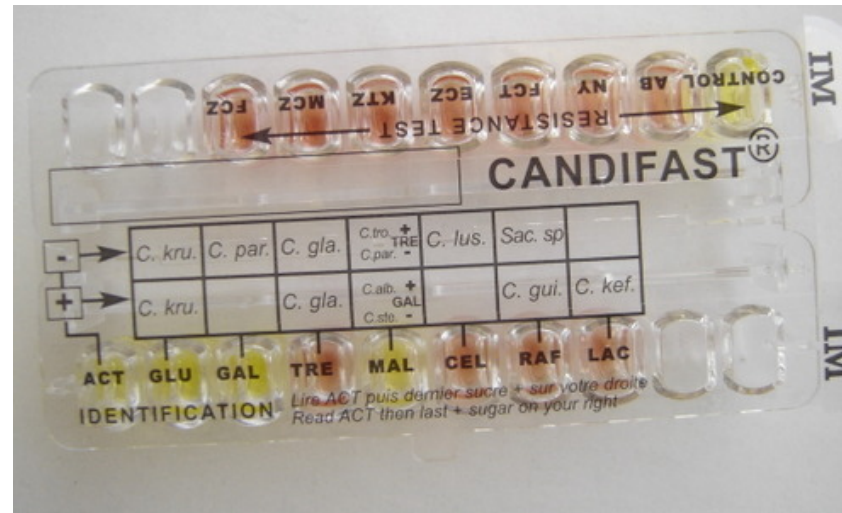
Identificação das principais leveduras de interesse médico

Levedura	Tg	Cultivo em lâmina		Ur	Assimilação									Fermentação					
		Hifa	Ar		Sa	Ma	La	Ce	Tr	Ra	X	I	NO ₃	Gl	Sa	Ma	La	Ra	Tr
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	V
<i>C. tropicalis</i>	-	+	-	-	+	+	-	V	+	+	+	-	-	+	V	+	-	-	+
<i>C. parapsilosis</i>	-	+	-	-	+	+	-	V	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	V
<i>C. krusei</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	V
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>C. neoformans</i>	-	-	-	+	+	+	-	V	+	V	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Geotrichum</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	V	-	-	-	-	-
<i>Trichosporon</i>	-	+	+	V	+	+	+	+	V	V	+	V	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodotorula sp</i>	-	-	-	+	+	V	-	V	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	V	+	-	-	-	+	+	+	-	+	V

Tg = tubo germinativo, Ar = artrósporo, Ur= urease, Sa = sacarose, Ma=maltose,La = lactose, Ce = celubiose, Tr = trealose, Ra = rafinose, X = xilose, I = inositol,NO₃ = nitrato, Gl = glicose, + = pos, - = neg, V= variável

- **Kits de identificação de leveduras**

- Baseados em testes bioquímicos



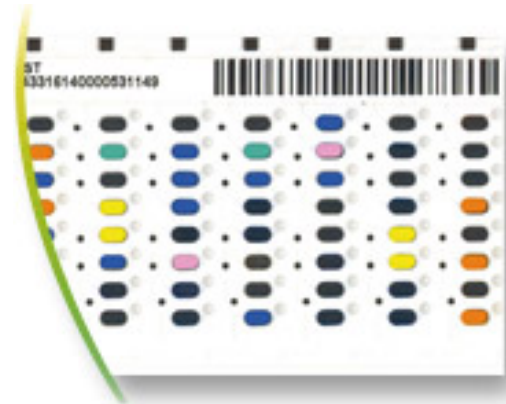
- **Método automatizado de identificação de leveduras**

Ex. Vitek 2 (Biomérieux)

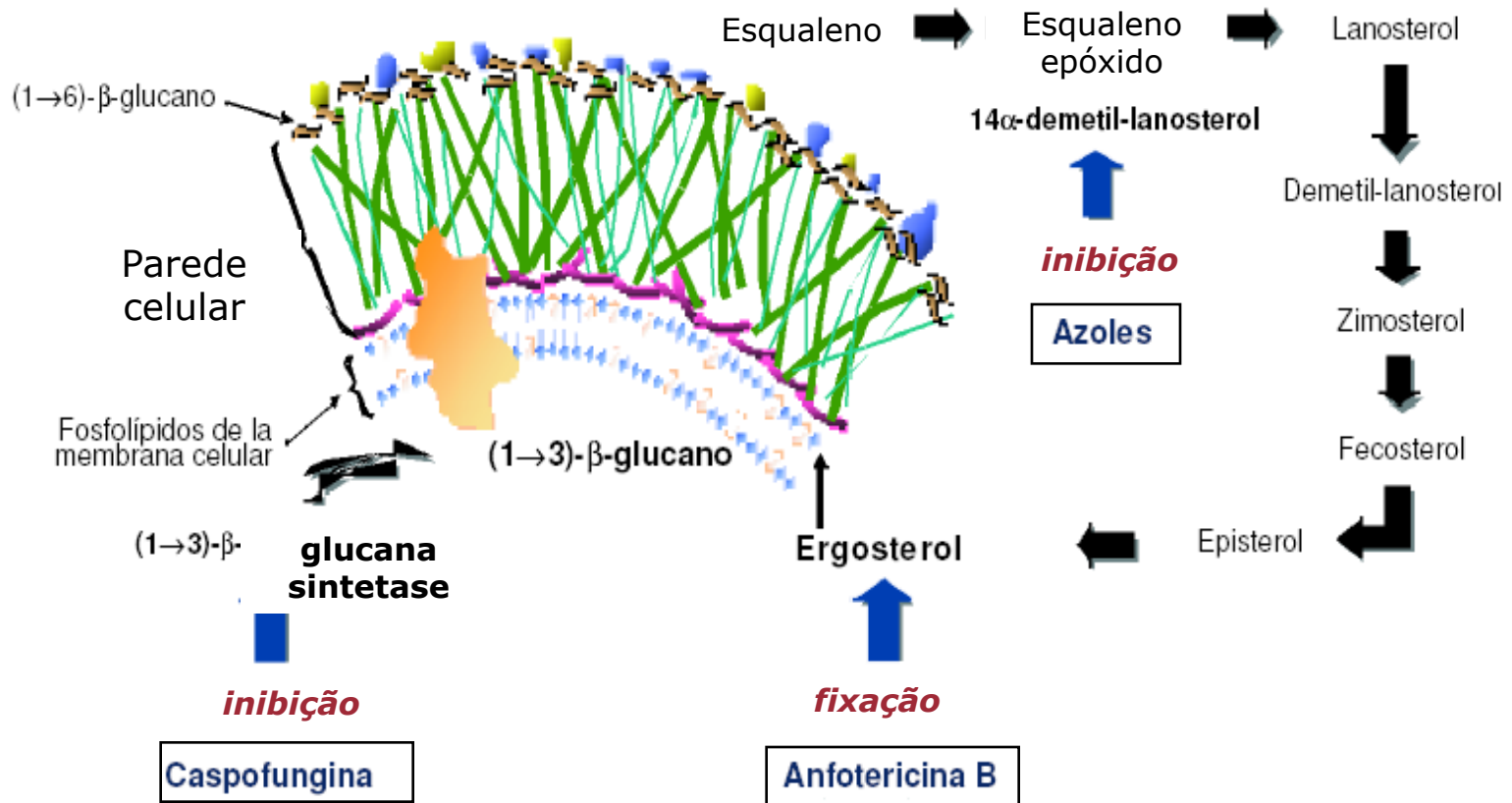
API2HOC AUX System (Biomérieux)



Vitek 2



Tratamento das candidíases- Antifúngicos





The Brazilian Journal of
INFECTIOUS DISEASES

www.elsevier.com/locate/bjid



Original article

Brazilian guidelines for the management of candidiasis – a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical[☆]

Arnaldo Lopes Colombo^{a,*}, Thaís Guimarães^b, Luis Fernando Aranha Camargo^a,
Rosana Richtmann^c, Flavio de Queiroz-Telles^d, Mauro José Costa Salles^e,
Clóvis Arns da Cunha^f, Maria Aparecida Shikanai Yasuda^g, Maria Luiza Moretti^h,
Marcio Nucciⁱ



Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America

Peter G. Pappas,¹ Carol A. Kauffman,² David R. Andes,³ Cornelius J. Clancy,⁴ Kieren A. Marr,⁵ Luis Ostrosky-Zeichner,⁶ Annette C. Reboli,⁷ Mindy G. Schuster,⁸ Jose A. Vazquez,⁹ Thomas J. Walsh,¹⁰ Theoklis E. Zaoutis,¹¹ and Jack D. Sobel¹²

¹University of Alabama at Birmingham; ²Veterans Affairs Ann Arbor Healthcare System and University of Michigan Medical School, Ann Arbor; ³University of Wisconsin, Madison; ⁴University of Pittsburgh, Pennsylvania; ⁵Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland; ⁶University of Texas Health Science Center, Houston; ⁷Cooper Medical School of Rowan University, Camden, New Jersey; ⁸University of Pennsylvania, Philadelphia; ⁹Georgia Regents University, Augusta; ¹⁰Weill Cornell Medical Center and Cornell University, New York, New York; ¹¹Children's Hospital of Pennsylvania, Philadelphia; and ¹²Harper University Hospital and Wayne State University, Detroit, Michigan

It is important to realize that guidelines cannot always account for individual variation among patients. They are not intended to supplant physician judgment with respect to particular patients or special clinical situations. IDSA considers adherence to these guidelines to be voluntary, with the ultimate determination regarding their application to be made by the physician in the light of each patient's individual circumstances.

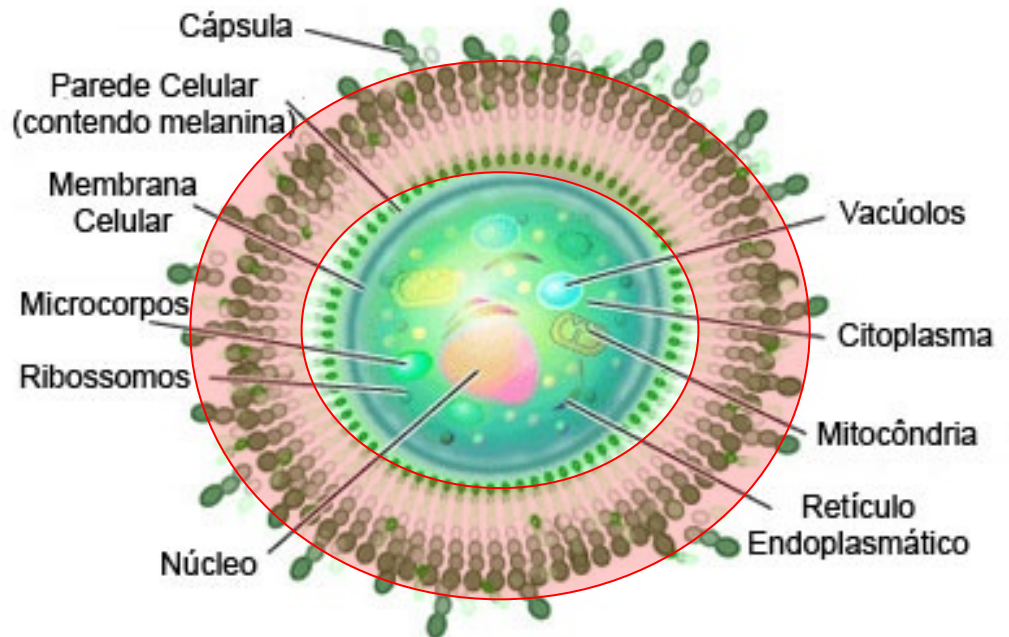
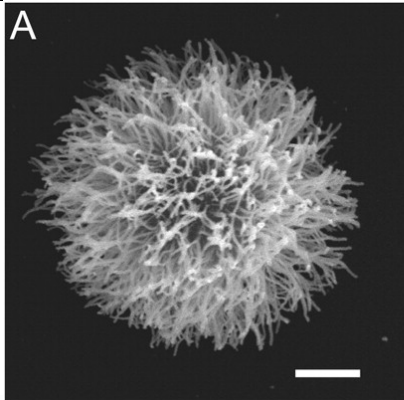
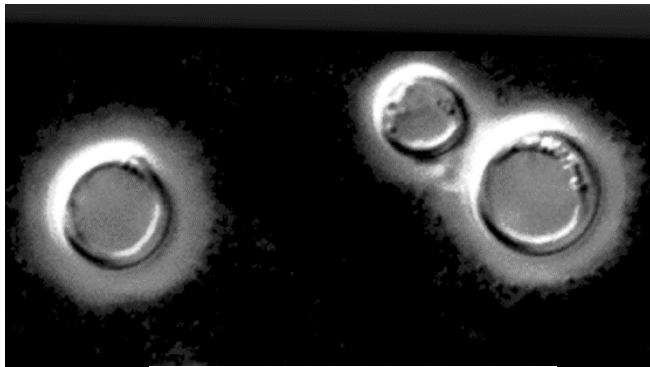
Keywords. candidemia; invasive candidiasis; fungal diagnostics; azoles; echinocandins.

Criptococose

Cryptococcus spp.

Fungo na forma de levedura pertencente ao grupo dos Basidiomicetos;

- Ele é representado por mais de 30 espécies de levedura com presença de cápsula mucopolissacarídica



Esquema do fungo *Cryptococcus neoformans* (adaptado de www.scq.ubc.ca)

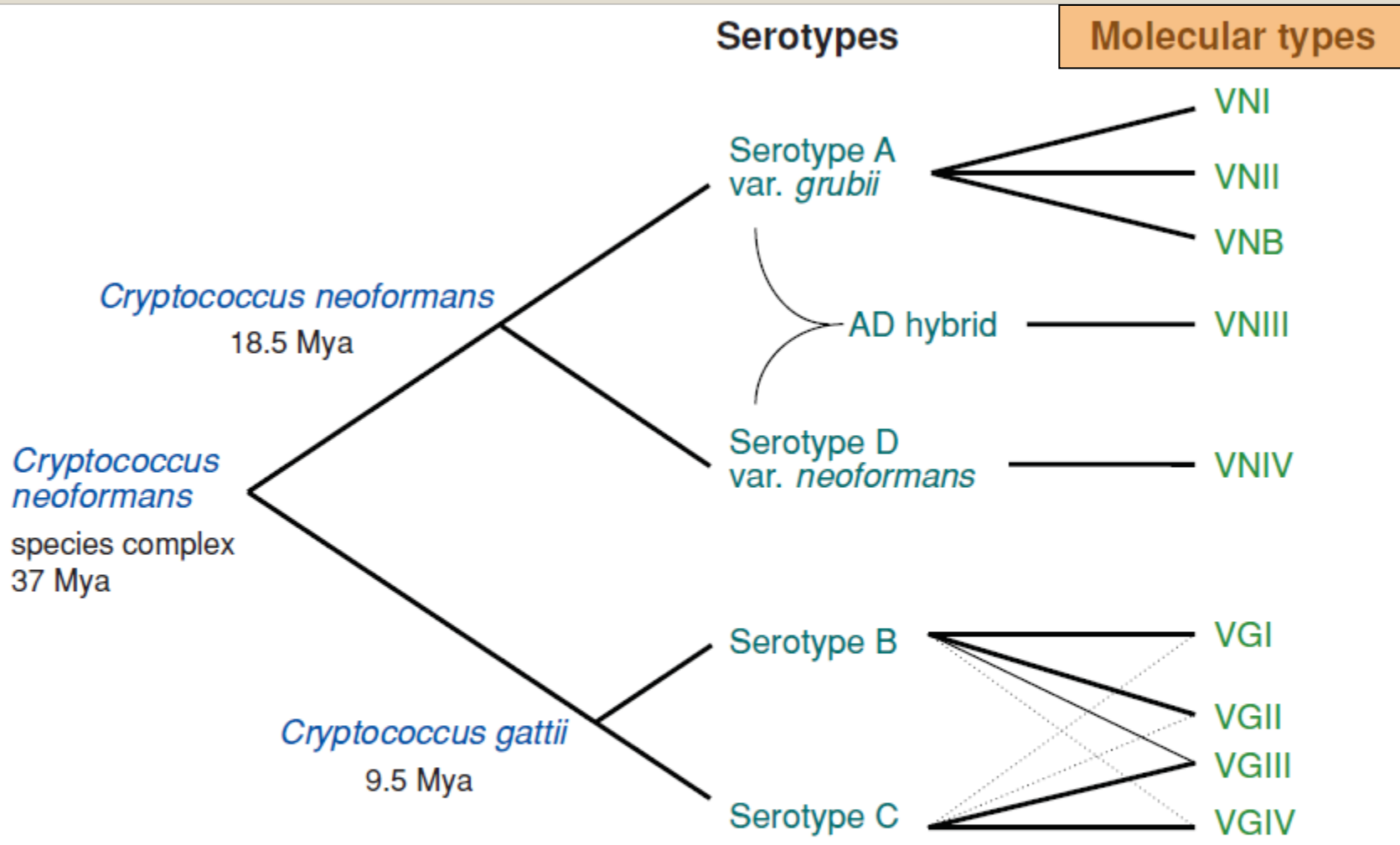
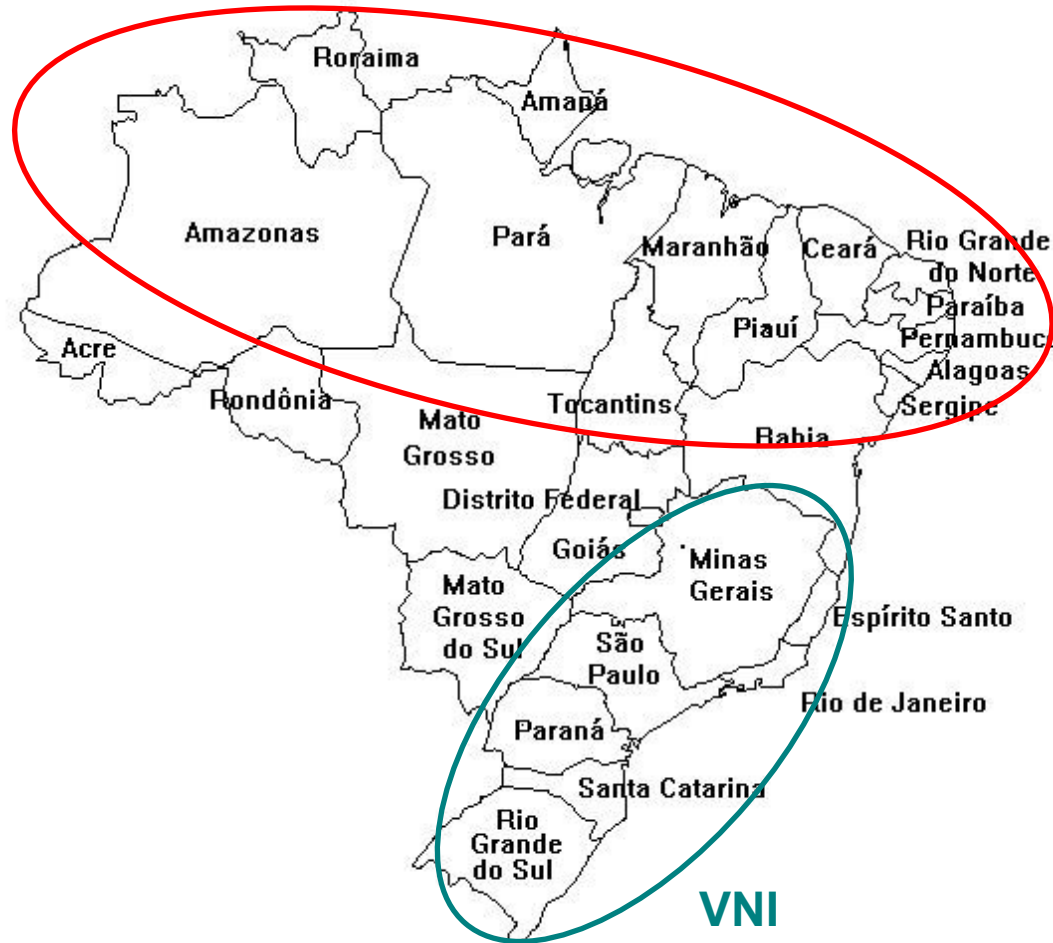


Figure 3

Evolution of the *C. neoformans* species complex. The *Cryptococcus* species complex contains at least two subspecies, *C. neoformans* and *C. gattii*, which diverged from a common ancestor ~37 and ~18.5 mya, respectively. They are further divided into four serotypes consisting of at least nine molecular types. Solid, thin, and dashed lines indicate the prevalence of the respective serotype in each molecular type.

VGII

Norte/Nordeste imunocompetentes



Sul/Sudeste: Pacientes imunocomprometidos (HIV+)

Criptococose

- Micose sistêmica de evolução subaguda ou crônica que atinge vários órgãos, principalmente, pulmões e sistema nervoso central.
- Ocorre em animais e nos homens, mas a transmissão animal-homem ou homem-homem não foi documentada.
- Fontes ambiental: solo contendo excrementos de pombos ou eucaliptos e outras árvores.
- Transmissão: inalação de fungo encontrado no ambiente.



Fezes de pombo



Eucalipto e madeira em decomposição

Criptococose em Pombos

- *C. neoformans* tem sido isolado regularmente de fezes de pombos.
 - Raramente isolada de outras espécies como galinhas, patos, gansos, etc.
 - Pombos não desenvolvem a criptococose e poucos estudos relatam o isolamento do fungo dentro do corpo destas aves. A temperatura interna é de 42° C e a maioria das leveduras não sobreviveriam.
 - O fungo desenvolve-se melhor em fezes antigas e secas misturadas com pó e sujeira do que em fezes frescas e pastosas.
 - Fungo é isolado mais facilmente de fezes de pombos depositadas no solo mas raramente em área asfáltica.

Criptococose em Pombos

- *C. neoformans* tem sido isolado regularmente de fezes de pombos.
 - Isolado em fezes antigas e secas e em contato com o solo. Em solo asfáltico, o fungo não é encontrado.
- O fungo é encontrado em outras espécies de aves?
- O pombo desenvolve a criptococose?

Associação entre *Cryptococcus* e árvores

- *Cryptococcus* spp. pode ser encontrado em frutas e árvores. Estudos sugerem que *C. gattii* e *C. neoformans* (variedades *neoformans* e *grubii*) têm nichos ambientais diferentes.
- A maioria dos fungos isolados de *Eucalyptus* spp. é da espécie *C. gattii*. Na Austrália *C. gattii* também é isolado de outras espécies de árvores.
 - *C. neoformans* também podem estar presente nas árvores.
 - *C. neoformans* está relacionada com fezes de pombo

Associação entre *Cryptococcus* e árvores

- *Cryptococcus* spp. pode ser encontrado em frutas e árvores.
- A maioria dos fungos isolados de *Eucalyptus* spp. e outras árvores é da espécie *C. gattii*.

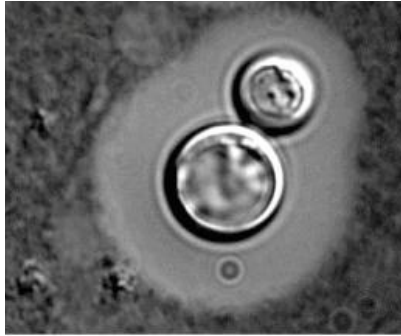
C. gattii está relacionada a árvores.

C. neoformans está relacionada com fezes de pombo.

Problemática - AIDS

- ***Cryptococcus* spp. é o principal fungo causador de meningoencefalite em pacientes imunocomprometidos.**
 - Com o aumento do número de pacientes portadores do vírus HIV na década de 80, passou a ocupar o 3º lugar das doenças oportunistas;
 - A taxa de mortalidade é de 10% em países desenvolvidos e 43% em países em desenvolvimento podendo chegar até 70%;
 - Na década de 90 iniciou-se a utilização do coquetel antiretroviral (HAART) nos países desenvolvidos...
 - Diminuição dos casos de criptococoses.

O Fungo



Leveduras (infecção)
Reprodução **Assexuada**



Filamento (ambiente)
Reprodução **Sexuada**

Fase anamorfa

Cryptococcus neoformans

Cryptococcus gattii

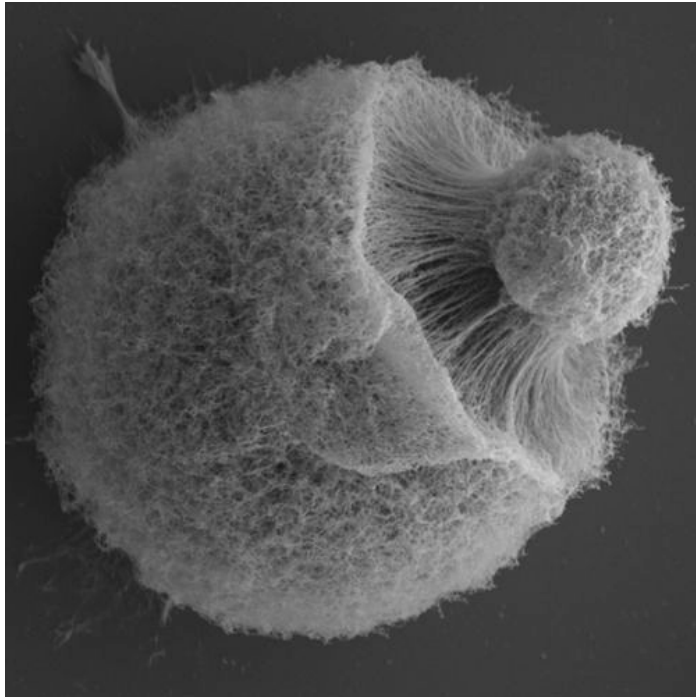
Fase teleomorfa

Filobasidiella neoformans

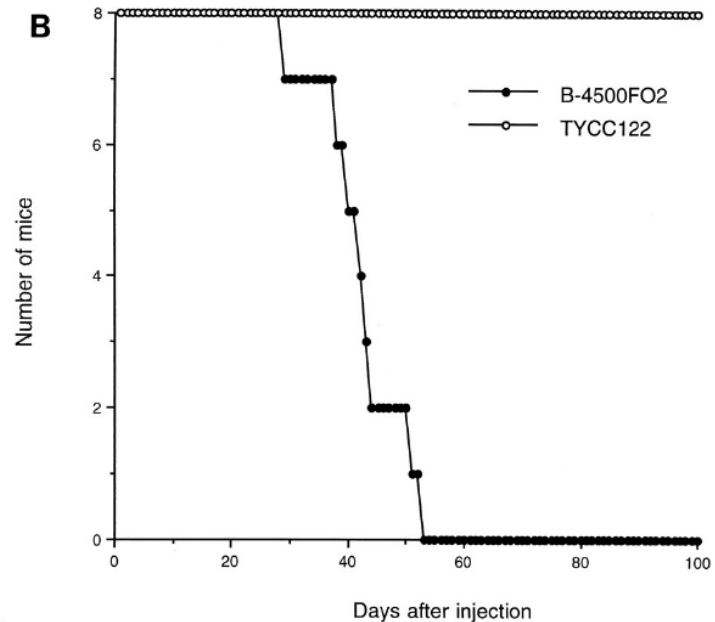
Filobasidiella bacillispora

Fatores de virulência do fungo

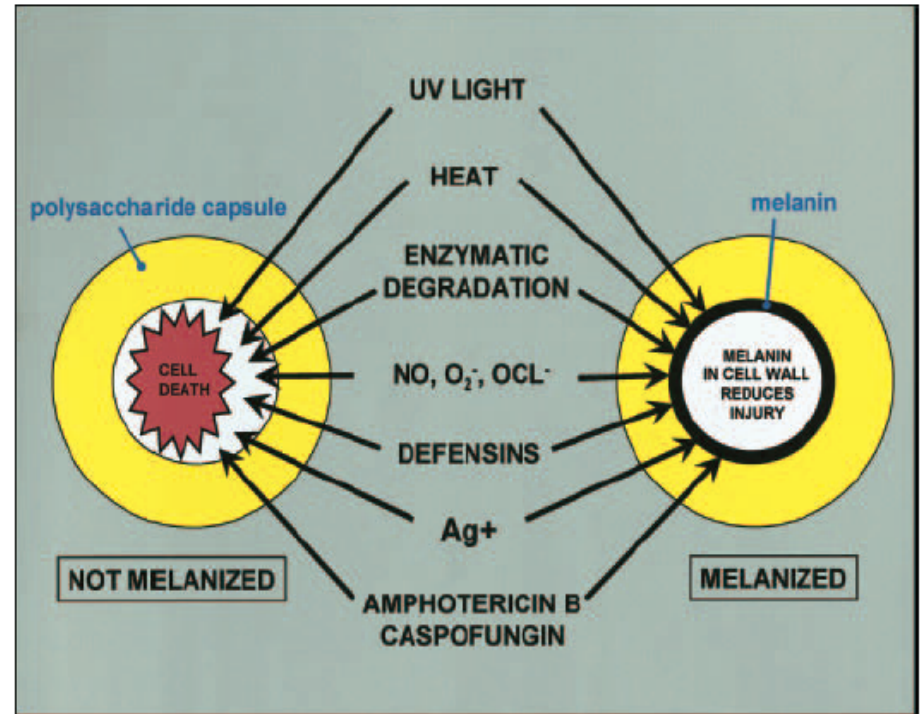
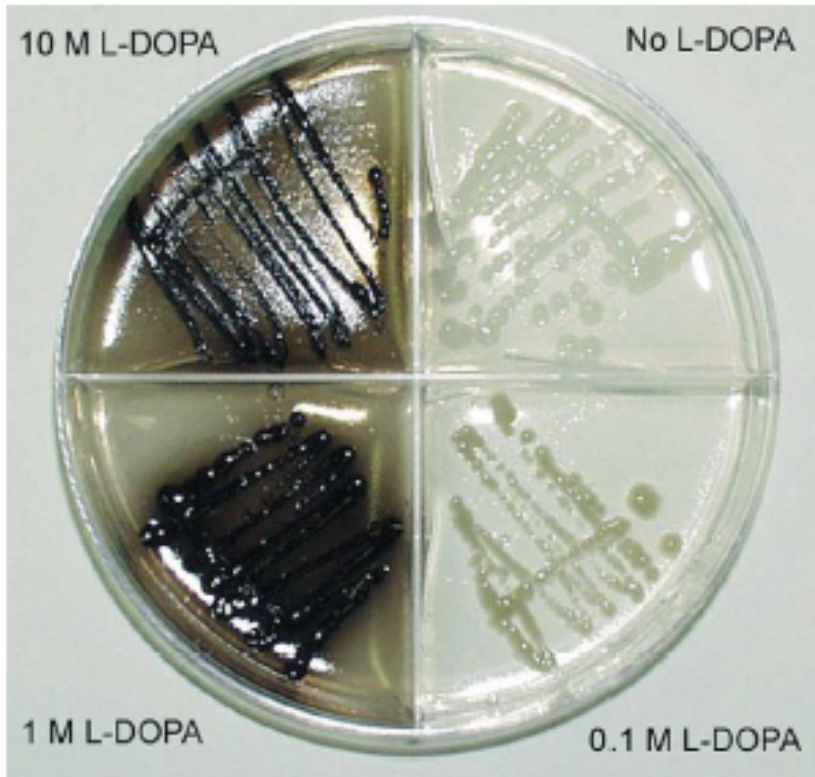
Cápsula (GXM e GalXM)



- Barreira anti-fagocítica
- Inibe produção de citocinas pró-inflamatórias
- Depleta complemento
- Reduz a migração de leucócitos para os sítios de inflamação
- Citotóxica

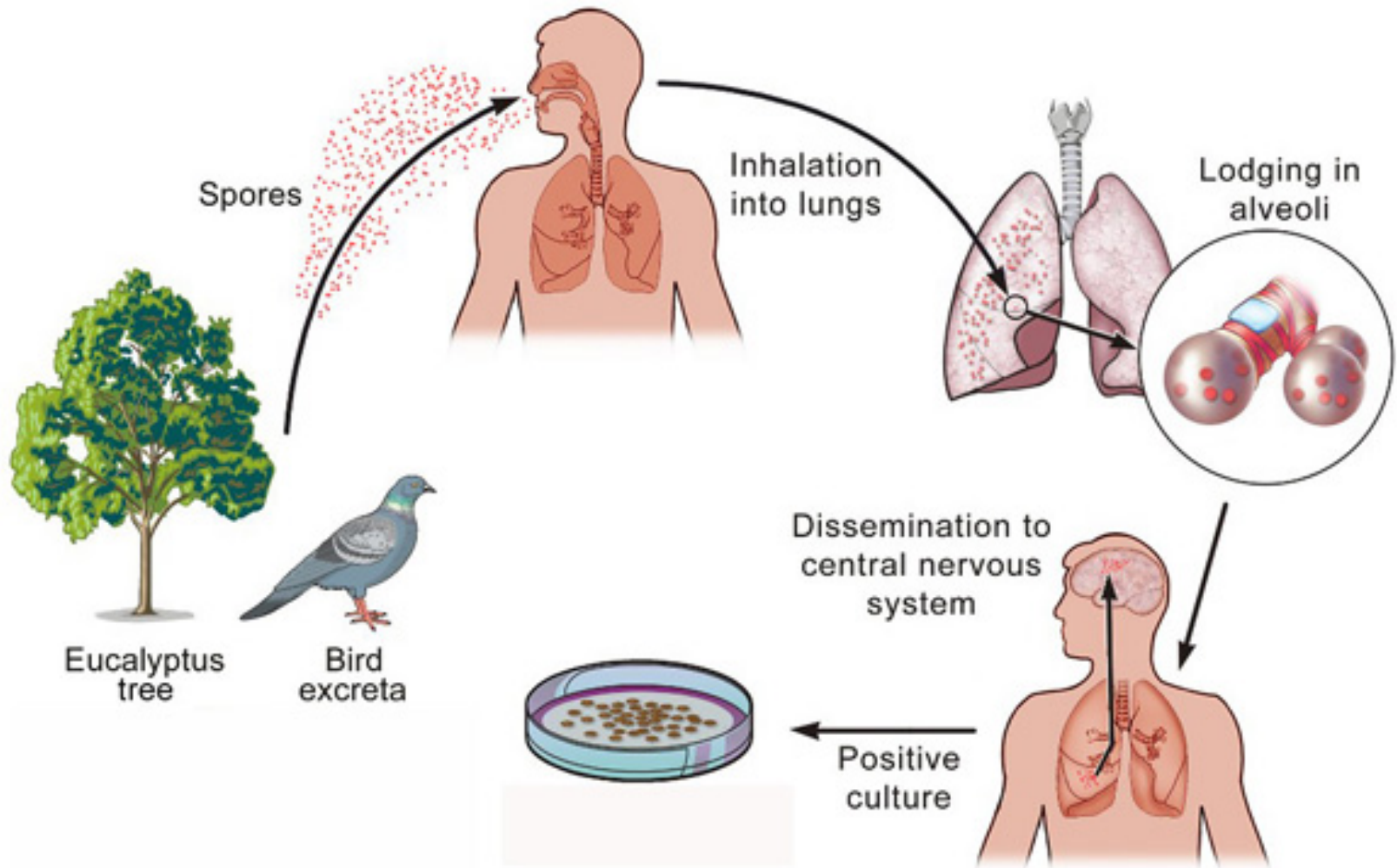


Melanina



- Outros fatores de virulência
 - Ácido siálico na cápsula – a superfície do fungo fica carregada negativamente
 - Produção de enzimas hidrolíticas – proteinase, fosfolipase, esterase, urease, metabolismo de inositol purinas e piridinas,
 - Utilização de ferro para transdução de sinais

Patogenia



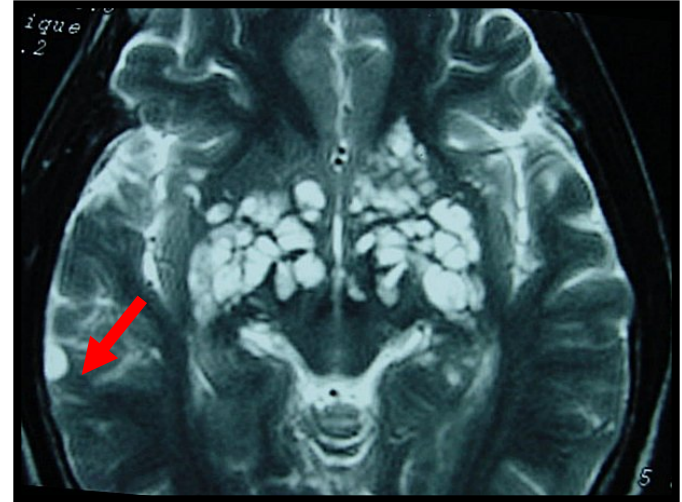
• Hipótese para o neurotropismo

- 1. Presença de substratos para a síntese de melanina: dopamina e epinefrina
- 2. SNC pode servir de refúgio do fungo contra a resposta imune
 - Sistema imunológico atua com menos rigor no cérebro
- 3. Presença de receptores específicos em células neuronais poderiam atrair *Cryptococcus*
 - Adere células endotélias dos vasos capilares do cérebro (*in vivo*)
 - Adere células da glia e do pulmão de ratos (*in vitro*)

Manifestações clínicas

1- Forma disseminada Comprometimento do Sistema Nervoso Central:

- A meningoencefalite ocorre em **90%** dos casos;
- Manifestações cutâneas, ósseas, pulmonares e SNC
- O sinal mais frequente é a Cefaléia occipital.
- Febre é rara.
- O paciente pode, também, apresentar demência, confusão mental e diminuição da acuidade visual.



<http://anatpat.unicamp.br>

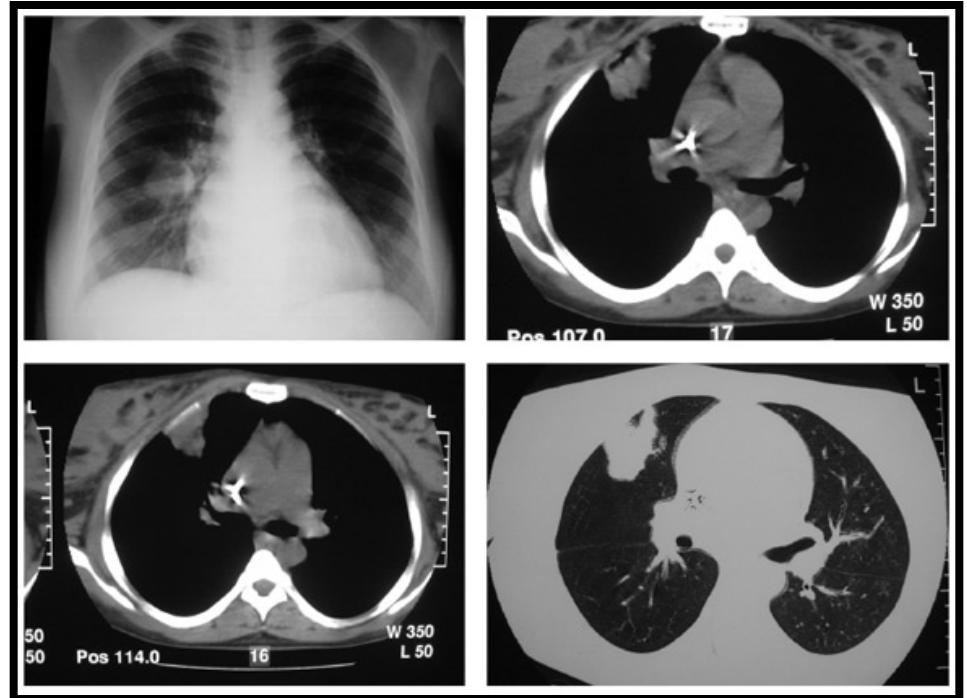


<http://criptococose.webnode.com/>

10-15% dos casos
Marcador de infecção disseminada.

2- Comprometimento pulmonar:

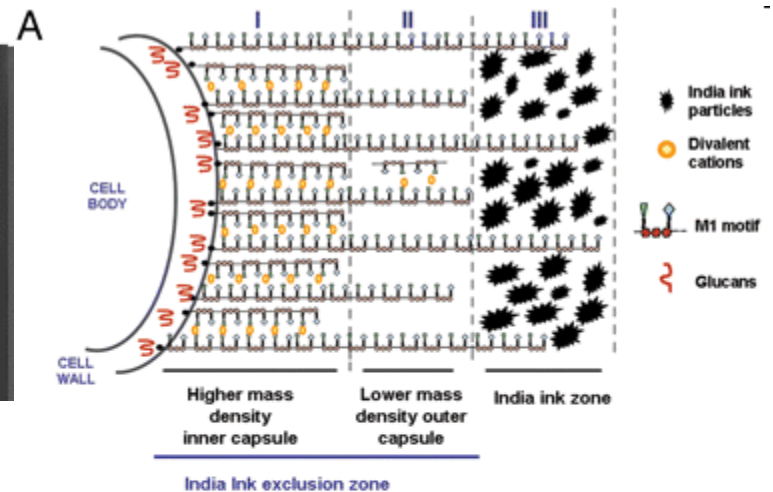
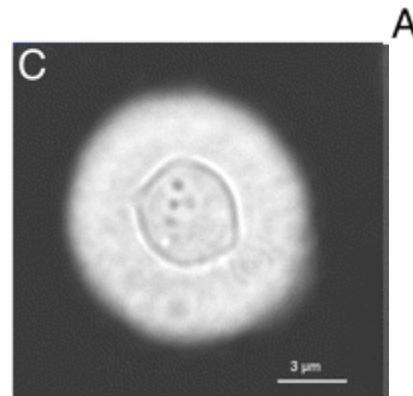
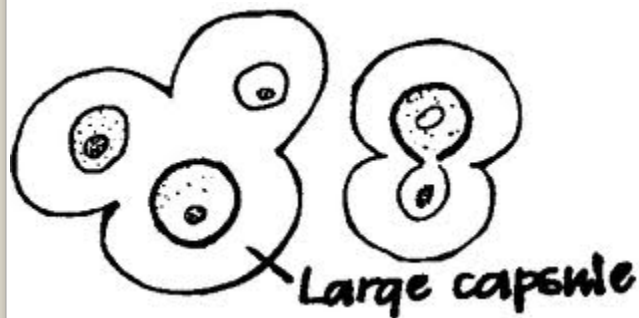
- É o segundo mais freqüente;
- Pode ser assintomático em 1/3 dos casos;
- Apresentação clínica pode variar entre manifestações localizadas até falência respiratória.



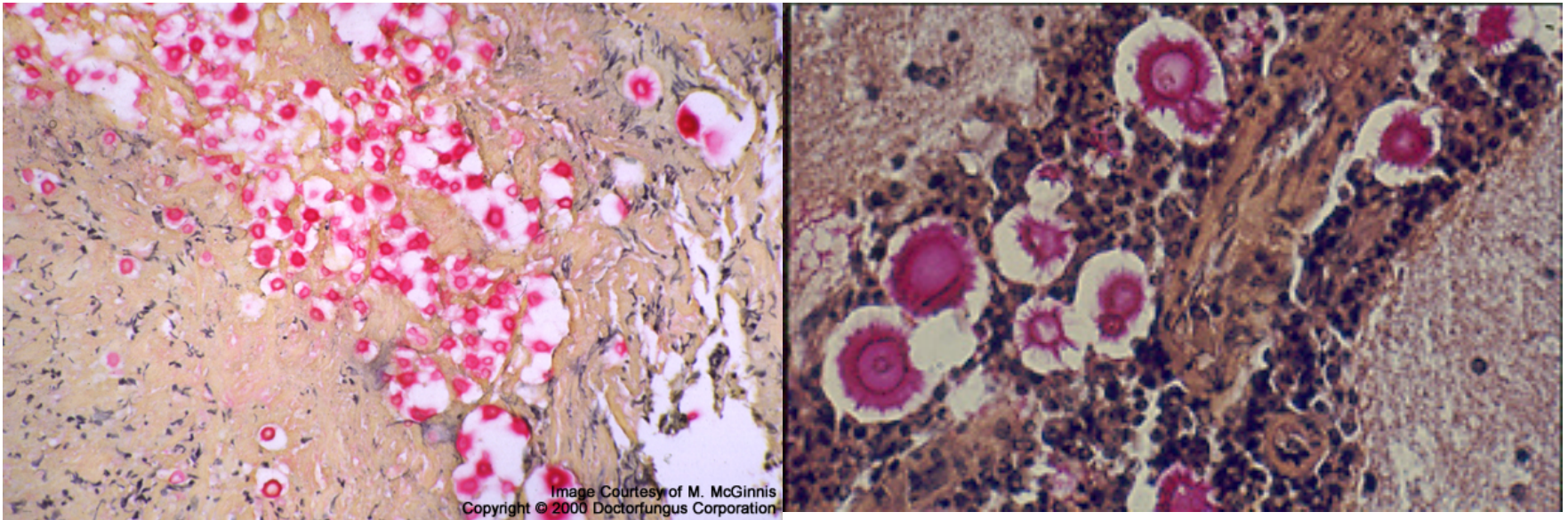
Jasinowodolinski *et al*, 2007

Diagnóstico Laboratorial

- **O material biológico:** escarro, líquido, material ganglionar, lesões mucocutâneas.
- **Exame direto:** Observação de levedura capsulada, utiliza-se tinta-nanquin para aumentar o contraste.
 - Interpretação: A presença de leveduras encapsuladas no material clínico deve ser considerado significativo, mesmo na ausência de sintomas clínicos.



- **Histopatologia:** PAS, GMS, HE,
 - mucicarmim (cora a cápsula polissacarídica)



• Cultura

- Ágar Sabouraud dextrose (SDA) + cloranfenicol
- Meio semente de niger + cloranfenicol
 - Compostos fenólicos



SDA: colônias translúcidas, lisas, gelatinosas. Culturas mais antigas tornam-se mucóide com coloração creme.

- **Teste sorológico:**

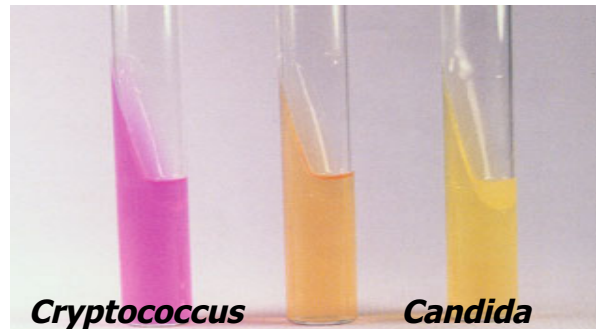
Aglutinação em látex: Pesquisa de antígeno capsular -
A cápsula do *Cryptococcus* é formada por um polissacarídeo contendo xilose, manose e ácido glucurônico (GXM).

- liquor: é o método de escolha para o diagnóstico de pacientes com meningite por *Cryptococcus* spp.



Provas Bioquímicas

Prova da urease em meio ágar uréia de Christensen: Leveduras do gênero *Candida* são urease - e leveduras do gênero *Cryptococcus* são +



Auxanograma: assimilação de açúcares

- Todas as espécies do gênero *Cryptococcus* não têm capacidade de fermentar nenhum tipo de açúcar (**NÃO** se realiza o zimograma)

Identificação das principais leveduras de interesse médico

Levedura	Tg	Cultivo em lâmina		Ur	Assimilação									Fermentação					
		Hifa	Ar		Sa	Ma	La	Ce	Tr	Ra	X	I	NO ₃	Gl	Sa	Ma	La	Ra	Tr
<i>C. albicans</i>	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	V
<i>C. tropicalis</i>	-	+	-	-	+	+	-	V	+	+	+	-	-	+	V	+	-	-	+
<i>C. parapsilosis</i>	-	+	-	-	+	+	-	V	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	V
<i>C. krusei</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	V
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>C. neoformans</i>	-	-	-	+	+	+	-	V	+	V	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Geotrichum</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	V	-	-	-	-	-
<i>Trichosporon</i>	-	+	+	V	+	+	+	+	V	V	+	V	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodotorula sp</i>	-	-	-	+	+	V	-	V	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Saccharomyces</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	V	+	-	-	-	+	+	+	-	+	V

Tg = tubo germinativo, Ar = artrósporo, Ur= urease, Sa = sacarose, Ma=maltose,La = lactose, Ce = celubiose, Tr = trealose, Ra = rafinose, X = xilose, I = inositol,NO₃ = nitrato, Gl = glicose, + = pos, - = neg, V= variável

Provas Bioquímicas

meio CGB - L-Canavanina –
Glicina – Azul de Bromotimol

(+) Azul – *C. gattii*
O meio passa de pH 5 para 7

(-) Amarelo – *C. neoformans*

Cryptococcus gattii : é naturalmente resistente a L-canavanina, metabolizando-a em produtos não tóxicos, sendo capaz de crescer no meio de CGB, onde a glicina é utilizada como única fonte de carbono e nitrogênio, produzindo amônia, elevando o pH e mudando a cor.



C. neoformans x *C. gattii*

	<i>C. neoformans</i>	<i>C. gattii</i>
Basidiósporos	Esféricos e rugosos	Baciliformes e lisos
Termotolerância	38-39°C	37 °C
Teste CGB	Sensível (não cresce)	Resistente (metaboliza os constituintes do meio – o meio fica de azul para verde – produção de amônia pH aumenta)
EDTA	Não inibe a urease	Inibe a urease
Sorotipos	D e AD	B e C
Distribuição	Cosmopolita, ambiente urbano. Relacionado a excretas de pombos e outras aves, madeiras em decomposição	Regiões tropicais e subtropicais. Associado a Eucalipto e madeiras em decomposição.
Acomete	imunocomprometidos	imunocomprometidos e imunocompetentes

Tratamento

- Forma pulmonar

Tabela 2 - Roteiro para tratamento das formas pulmonares de criptococose: HIV positivo ou cultura positiva de espécime respiratório, sem envolvimento do SNC.*

Forma leve/moderada		
Antifúngico	Dose e duração	Evidência
Fluconazol	200 a 400mg/dia VO por 6 a 12 meses	AIII
Ou	(vide observação)	
Itraconazol	200 a 400mg/dia VO por 6 a 12 meses	BIII
	(vide observação)	
Manutenção	fluconazol 200 a 400mg/dia ou itraconazol 200 a 400mg/dia	CIII
Forma grave	tratar como meningoencefalite	

* Em todos os casos determinar *Cryptococcus* no LCR: se cultura ou pesquisa direta e/ou látex positivos: tratar como infecção em SNC.

Em pacientes com aids e linfócitos T CD4+ > 100 a 200 células/mm³ por mais de 6 meses e aderentes a TARV, pode ser considerada a suspensão da terapêutica antifúngica de manutenção (CIII).

• Forma disseminada (SNC)

Tabela 5 - Pacientes HIV positivo e outras formas de imunodepressão Tratamento da criptococose em sistema nervoso central ou doença disseminada

Indução	Consolidação	Evidência
Anfotericina B: 0,7 a 1mg/kg/dia + 5-Fluocitosina: 100mg/kg/dia ÷ 4 doses VO por 2 semanas	fluconazol: 400mg/dia VO por 10 semanas	AI ^{9,10,113}
Esquemas alternativos		
anfotericina B: 0,7 a 1mg/kg/dia por 6 a 10 semanas		BII ⁹⁷
anfotericina B lipossomal 4 a 6mg/kg/dia por 6 a 10 semanas		BII ⁵⁵
anfotericina B complexo lipídico 4 a 5 mg/Kg/dia por 6 a 10 semanas		BII ^{18,101}
Em casos de intolerância ou impossibilidade de uso de anfotericina B e suas formulações lipídicas		
fluconazol: 800 a 1600mg /dia associado 5 FC 100mg/Kg/dia ÷ 4 doses VO, ou fluconazol: 1600 a 2000mg/dia por dia por 6 a 10 semanas		BII ⁶⁸
ou fluconazol: 400 a 800mg/dia por 10 a 12 semanas		CII ⁶⁶
*Manutenção 12 a 24 meses		
fluconazol: 200 a 400mg/dia, 1x dia, VO		AI ⁹⁵
itraconazol: 200mg/dia 1X, VO		CI ⁹⁵

Fluconazol deverá ser iniciado na fase de consolidação, quando paciente apresentar melhora clínica definida por: melhora do status mental, febre, cefaléia, sinais meníngeos e/ou negatificação da cultura do LCR na 2ª semana.

*pacientes com CD4+ > 100 a 200 células/mm³ por mais de 6 meses e aderentes a TARV, recomenda-se a suspensão da terapêutica antifúngica de manutenção (BII/BIII); reiniciar a terapêutica de manutenção se CD4 cair para < 100 cels/mm³ (CII)^{7 76 116}.

Obrigada!