

Criptococose

Kelly Ishida

Departamento de Microbiologia
Instituto de Ciências Biomédicas
Universidade de São Paulo



Classificação das micoses

Micose	Tecido	Agentes etiológicos
Superficial	Extrato córneo do tecido epitelial, pelo e cabelo	<i>Malassezia</i> spp. <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 outros
Sistêmica	Inicia-se com uma infecção pulmonar podendo atingir qualquer órgão	<i>Paracoccidioides</i> spp. <i>Histoplasma</i> spp. <i>Coccidioides</i> spp., <i>Blastomyces</i> spp.
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>Mucor</i> spp.

Criptococose

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

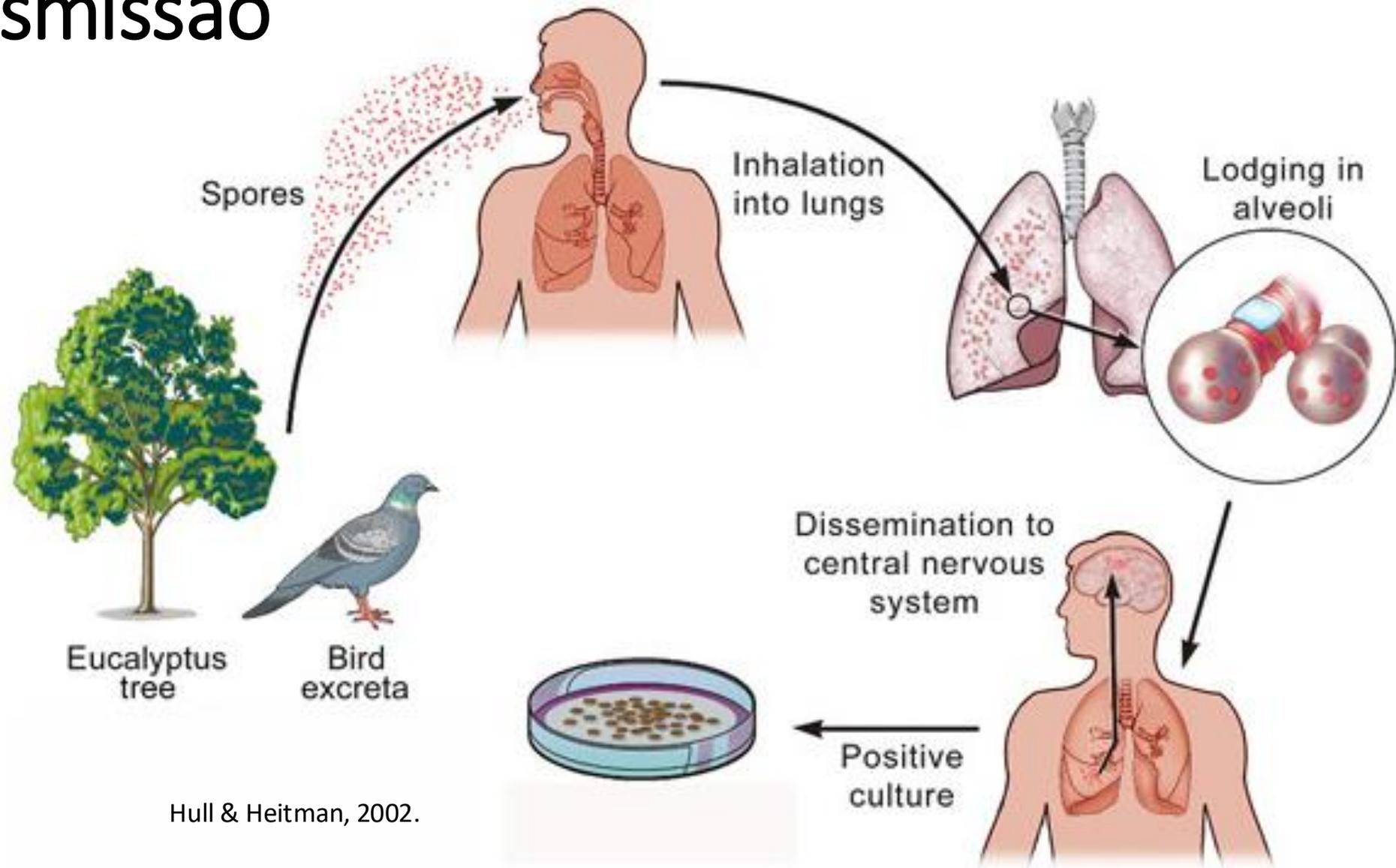


Fezes de pombo



Eucalipto e madeira em decomposição

Transmissão



Hull & Heitman, 2002.

Manifestações clínicas

Forma disseminada - Comprometimento do Sistema Nervoso Central:

- A meningoenfalite ocorre em **90%** dos casos;
- Manifestações cutâneas, ósseas, pulmonares
- 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>



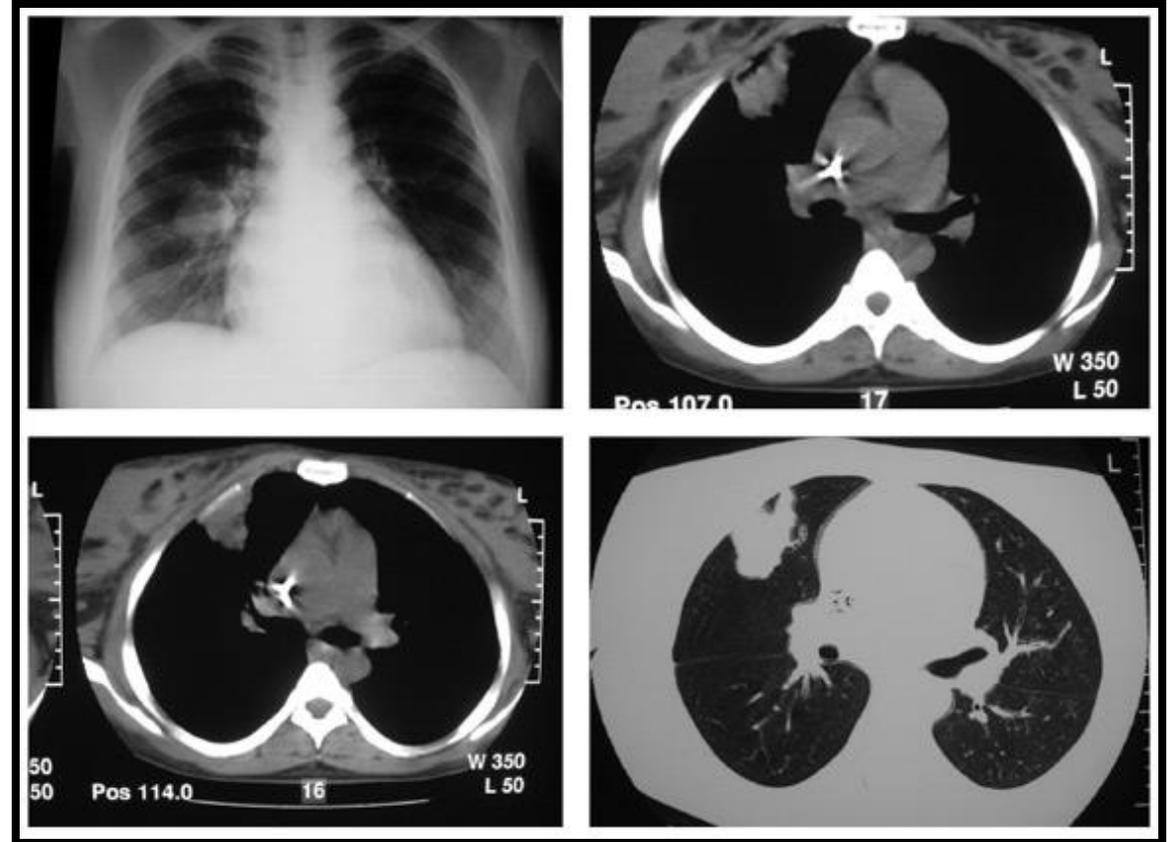
<http://criptococose.webnode.com/>

10-15% dos casos

Marcador de infecção disseminada.

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.



Agentes etiológicos

Cryptococcus - Basidiomycota
Complexo de espécies

Fase anamórfica
(ciclo assexual-levedura)

Cryptococcus neoformans
Cryptococcus gattii

Fase teleomórfica
(ciclo sexual-hifa)

Filobasidiella neoformans
Filobasidiella gattii

One species = one name

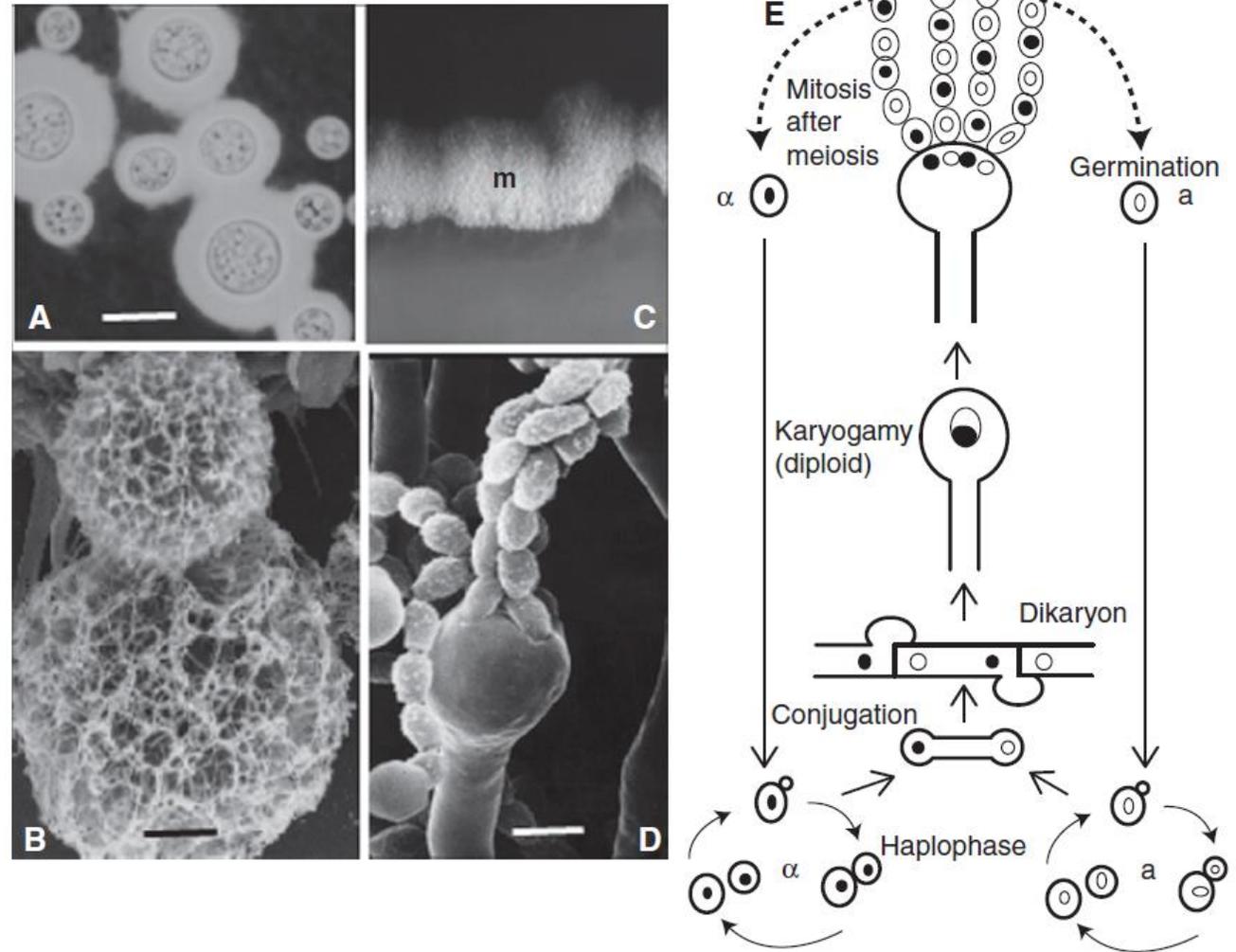


Figure 2. Sexual and asexual states of *Cryptococcus neoformans*. (A) Yeast cells stained by India ink showing encapsulated globose cells. Scale bar, 5 μm. (B) Scanning electron micrograph of budding yeast cells (image courtesy of Sabriya Stukes). Scale bar, 1 μm. (C) Dikaryotic hyphal production (m) at the edge of mated strains between JEC20 (*MATa*) X JEC21 (*MATα*). (D) Scanning electron micrograph of basidia-bearing chains of oval to elliptical basidiospores (Samson et al. 1983). Scale bar, 5 μm. (E) Life cycle of *Cryptococcus neoformans*. α, cells of *MATα* type; a, cells of *MATa* type.

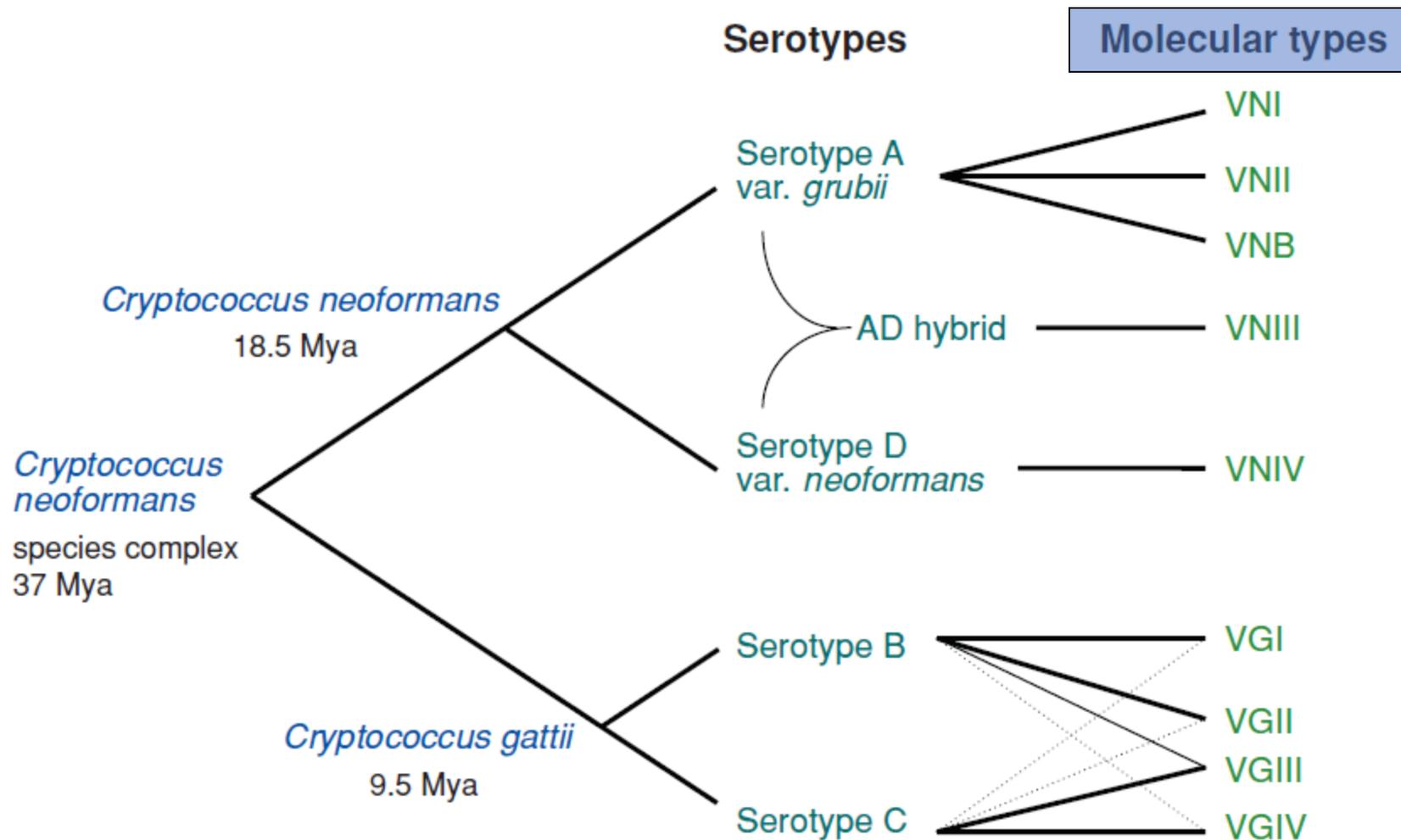


Figure 3

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.

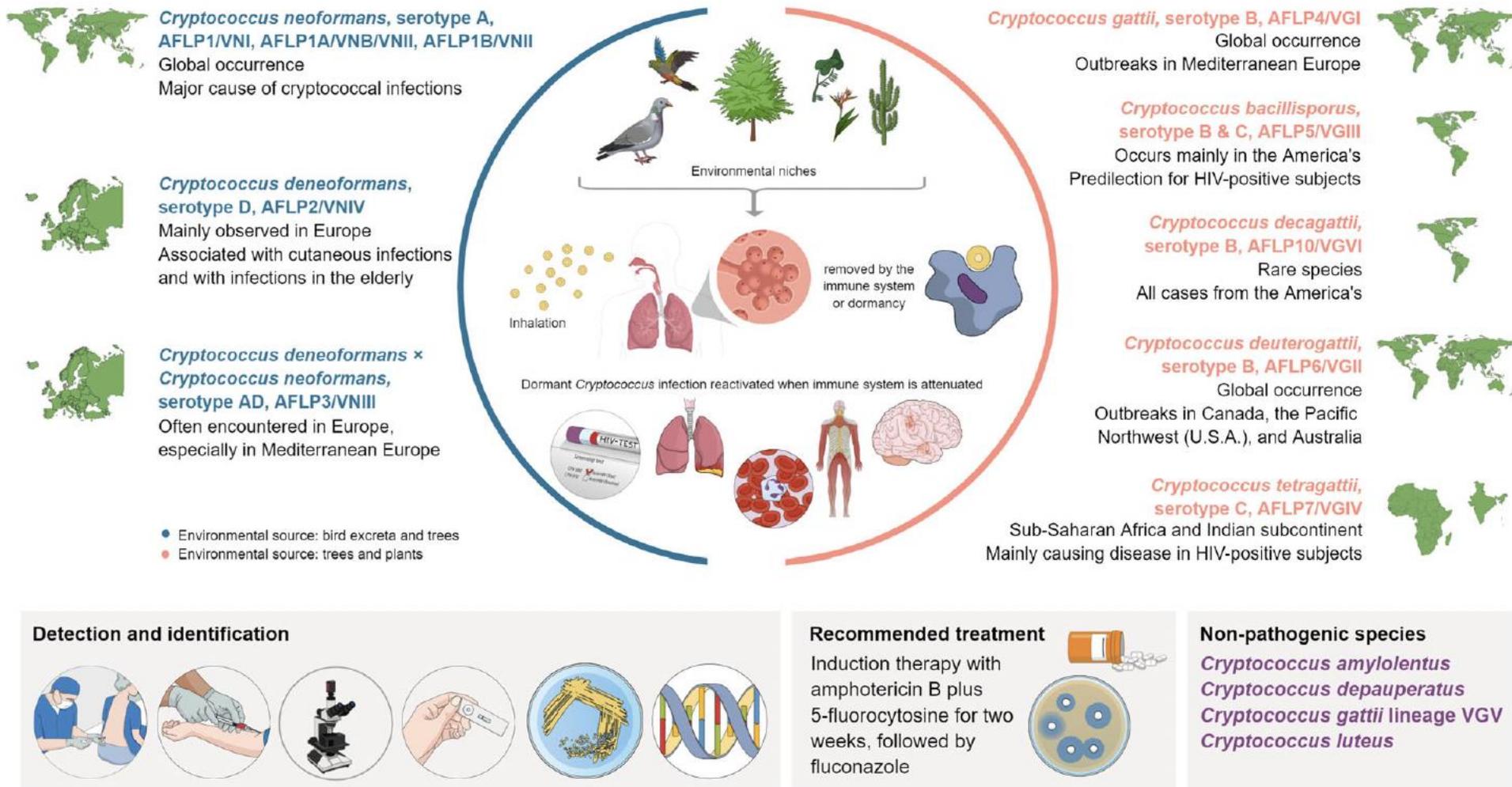


Fig. 1 Characteristics of the pathogenic members in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complexes. The upper part shows the 7 recognized species with serotype, AFLP genotype/molecular type, and geographic distribution. At the left side the *C. neoformans* species complex members, at the right side the *C. gattii* species complex

members. Central to this are the environmental source and route of infection. The lower part depicts detection and identification methods, recommended treatment (based on [10]), and an overview of non-pathogenic species in the genus *Cryptococcus* (based on [1, 2, 6])

Epidemiologia: Complexo de espécies

Cryptococcus neoformans

Localização: Mundo todo.

Atualmente em regiões com recursos limitados (região sub-Sahariana)

Pacientes Imunocomprometidos:

- HIV/AIDS,
- Transplantados
- Uso de corticosteroides, imunossupressores e outros.

Cryptococcus gattii

Localização: USA, Canadá, Austrália, Nova Zelândia, países da América do Sul

Pacientes Imunocompetentes e Imunocomprometidos

- Pessoas saudáveis, homens
- Povos aborígenes (Austrália e Nova Zelândia)
- Outras condições pulmonares, Fumar tabaco
- Pacientes com 50 anos ou mais
- HIV/AIDS, tratamento de câncer
- Uso de corticosteroides, imunossupressores e outros.

Dados epidemiológicos - Mundo



Taxa de mortalidade é de **70% em países em desenvolvimento**, e **20-30% em países mais desenvolvidos**

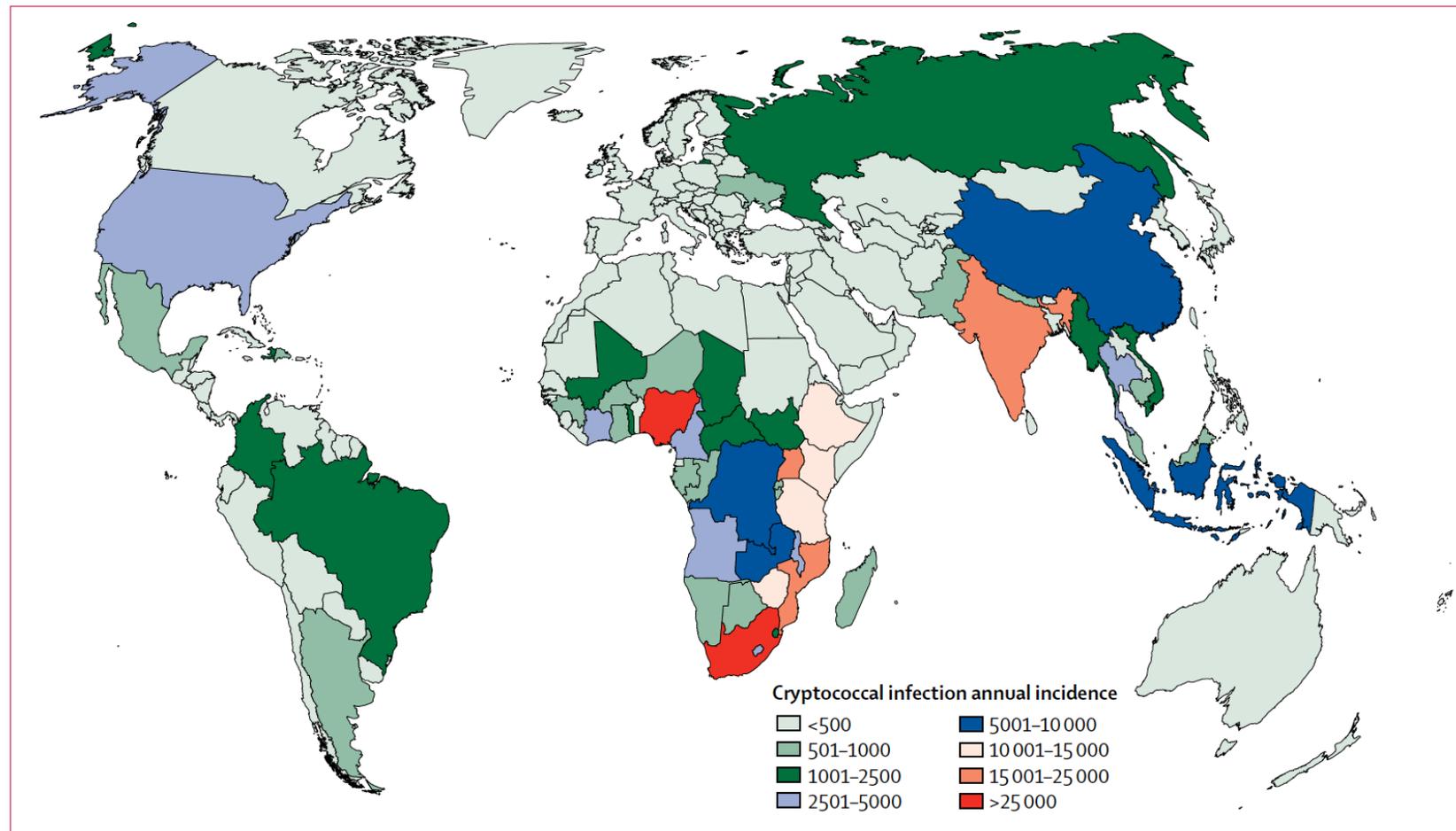


Figure 2: Annual incidence of cryptococcal infection by country

The annual number of people positive with cryptococcal antigenaemia estimated at 278 000 (95% CI 195 500–340 600) globally in 2014. We estimated 223 100 annual incident cases of cryptococcal meningitis in 2014.

Problemática – HIV/AIDS

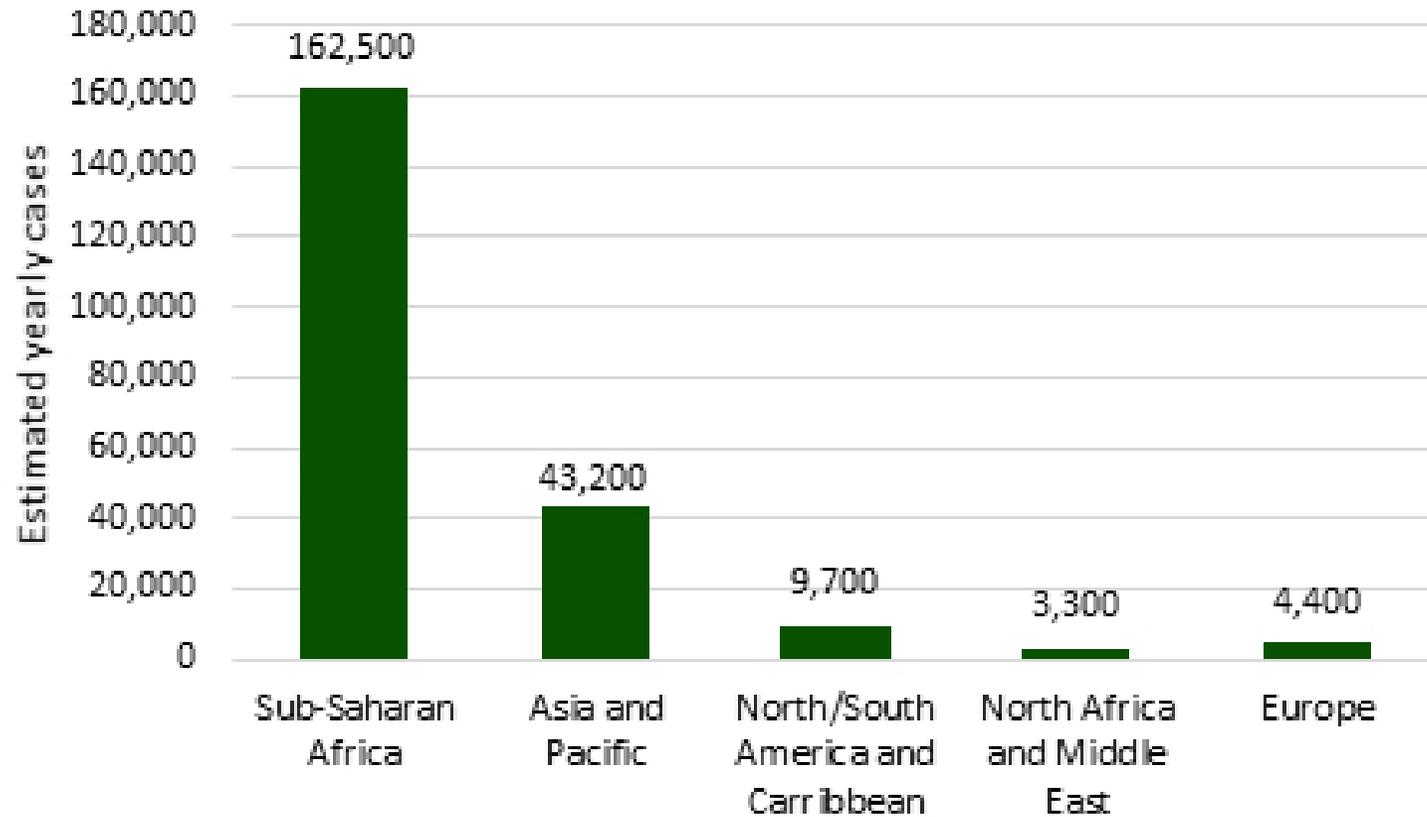
***Cryptococcus* spp. é o principal fungo causador de meningoencefalite em pacientes imunocomprometidos.**

C. neoformans é a mais prevalente

- 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.

Meningite criptocócica foi responsável por 15% das mortes relacionadas ao HIV/AIDS (Rajasingham et al., Lancet Infectious Diseases 2017).

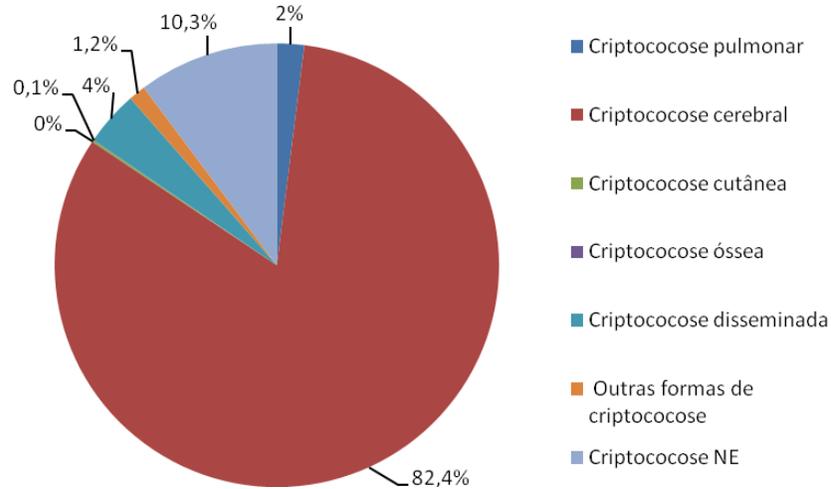
Meningite criptocócica relacionada ao HIV/AIDS



Rajasingham et al., Lancet Infectious Diseases 2017.
www.cdc.gov



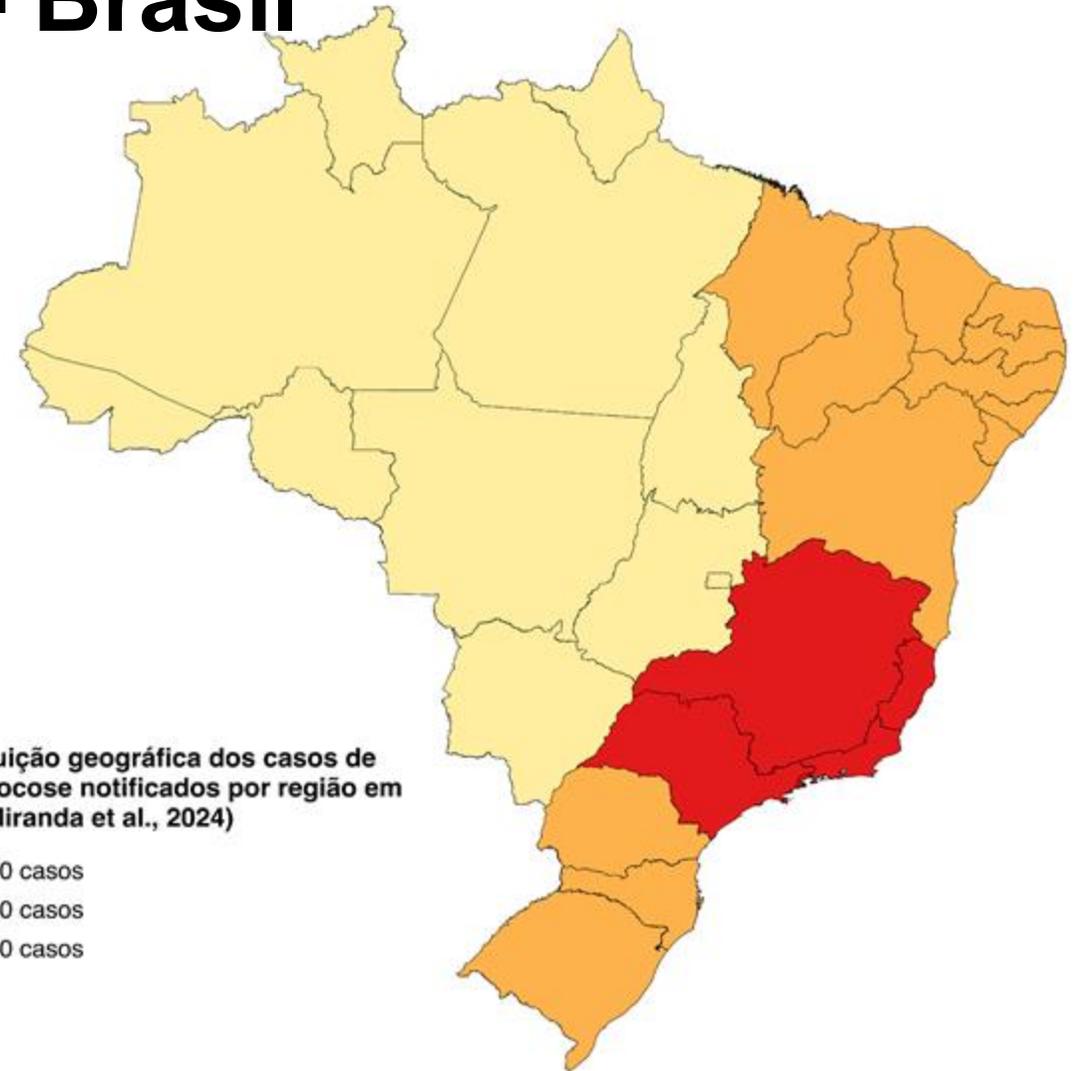
Dados epidemiológicos - Brasil



No Brasil, mais de 90% das infecções são registradas em pacientes HIV/AIDS



Elevada taxa de mortalidade na região Norte e Nordeste do país (37-49%), em indivíduos imunocompetentes
Cryptococcus gattii

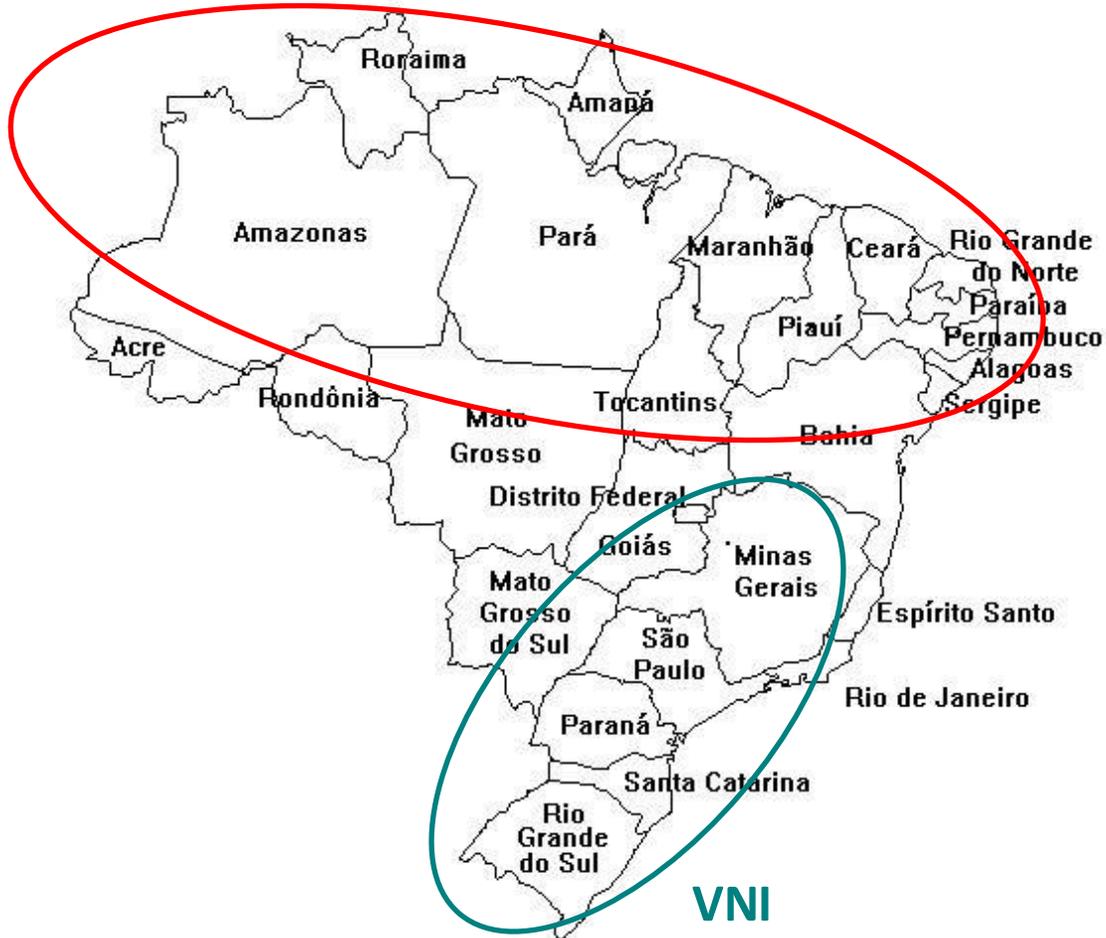


Created with mapchart.net

Ministério da Saúde, 2010; Ministério da Saúde, 2024;
Soares, Emmanuel Alves. Mortalidade por criptococose no Brasil (2000 a 2012).
Orientadores: Ziadir Francisco Coutinho e Márcia dos Santos Lazera
Dissertação de Mestrado (2015).

VGII

Norte/Nordeste: pacientes imunocompetentes



Dentre as micoses sistêmicas a criptococose tem sido relatada como a mais prevalente em termos de internação (SUS)

Sul/Sudeste: Pacientes imunocomprometidos (HIV/AIDS)

Patogênese

Fungo x sistema inume

Fatores de virulência de *Cryptococcus*:

Morfotipos celulares

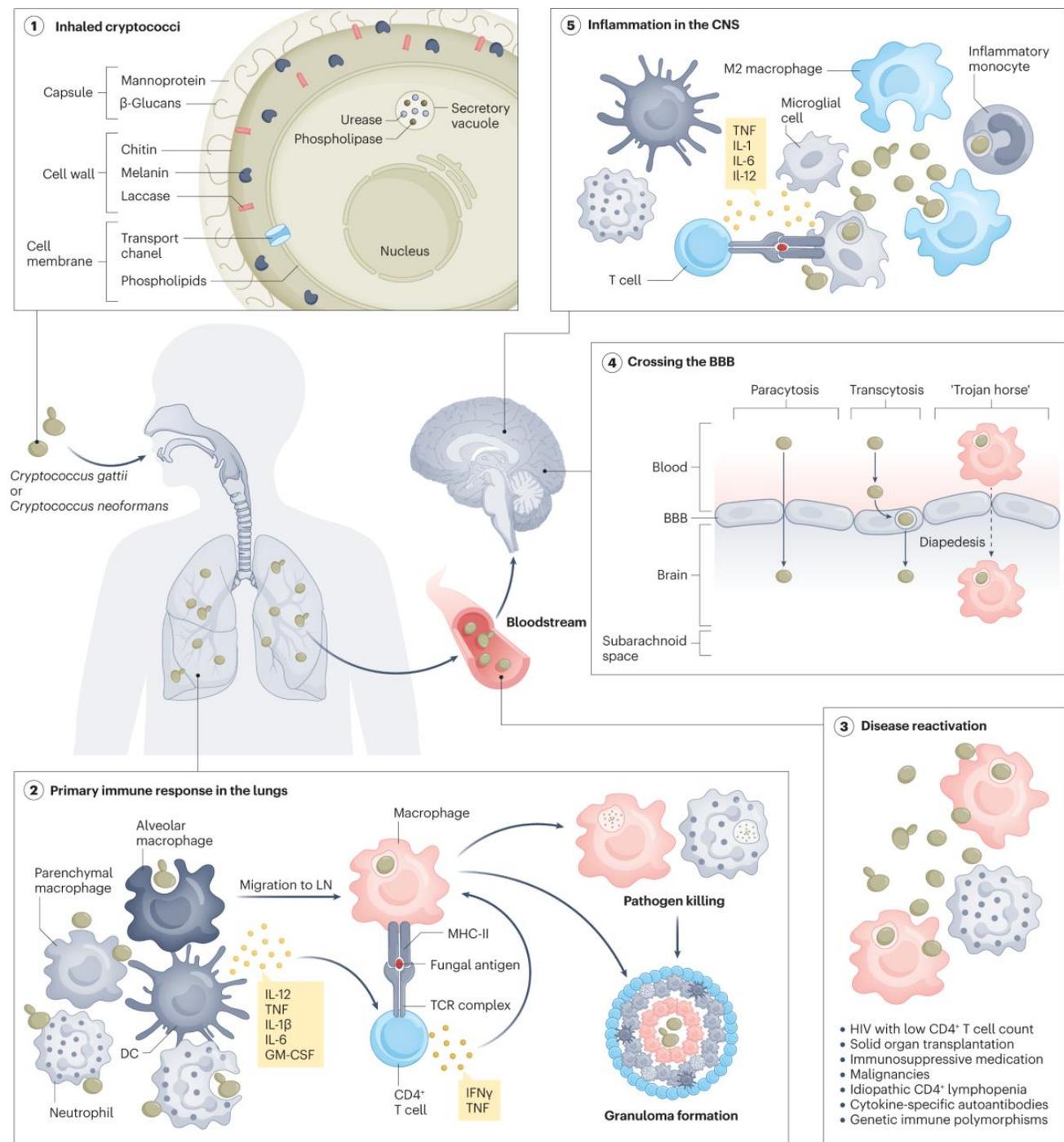
Cápsula polissacarídica

Composição de parede celular

Melanina

Enzimas: metaloproteinase, urease, fosfolipase e outras

Vesículas extracelulares





micro-cell

giant cell

capsule
enlargement

regular cell

Morfotipos de Leveduras



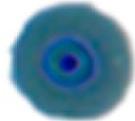
1

**Micro
Cell**



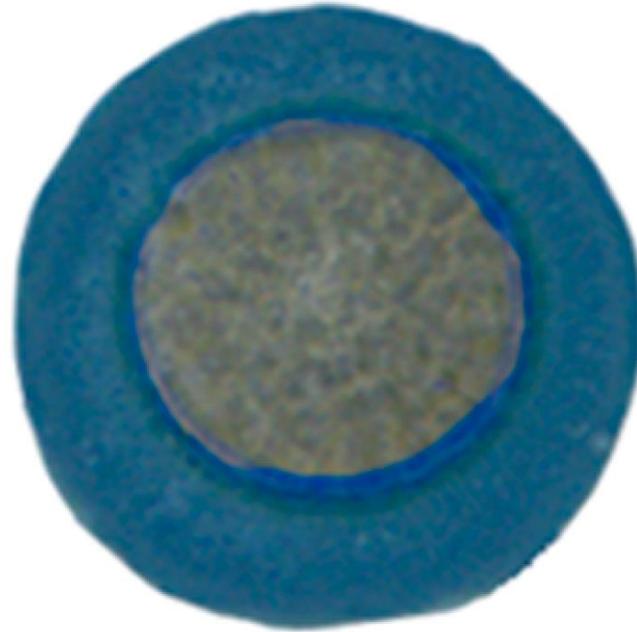
2

**Normal
cell**



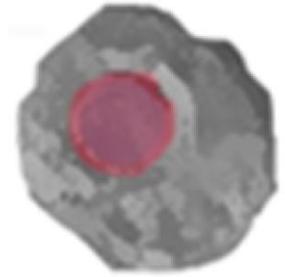
3

**Cell with
enlarged
capsule**



4

Titan cell

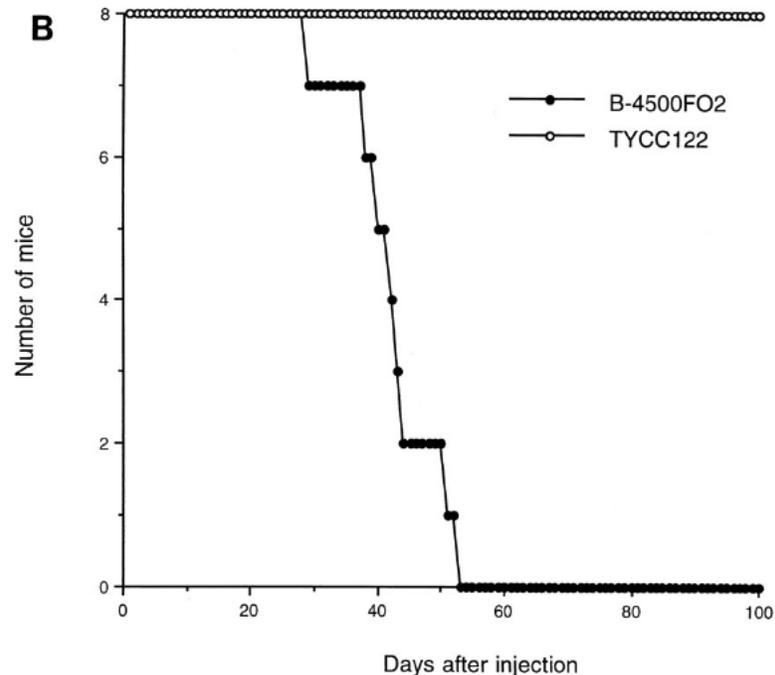
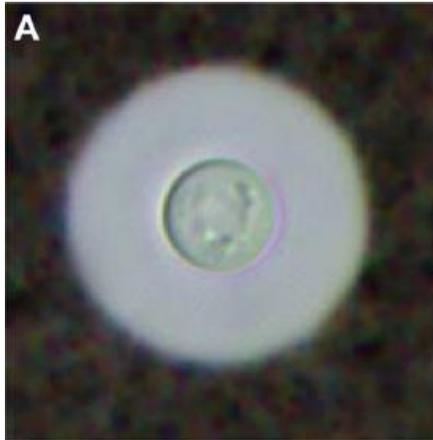


5

Phagocyte

20 μm

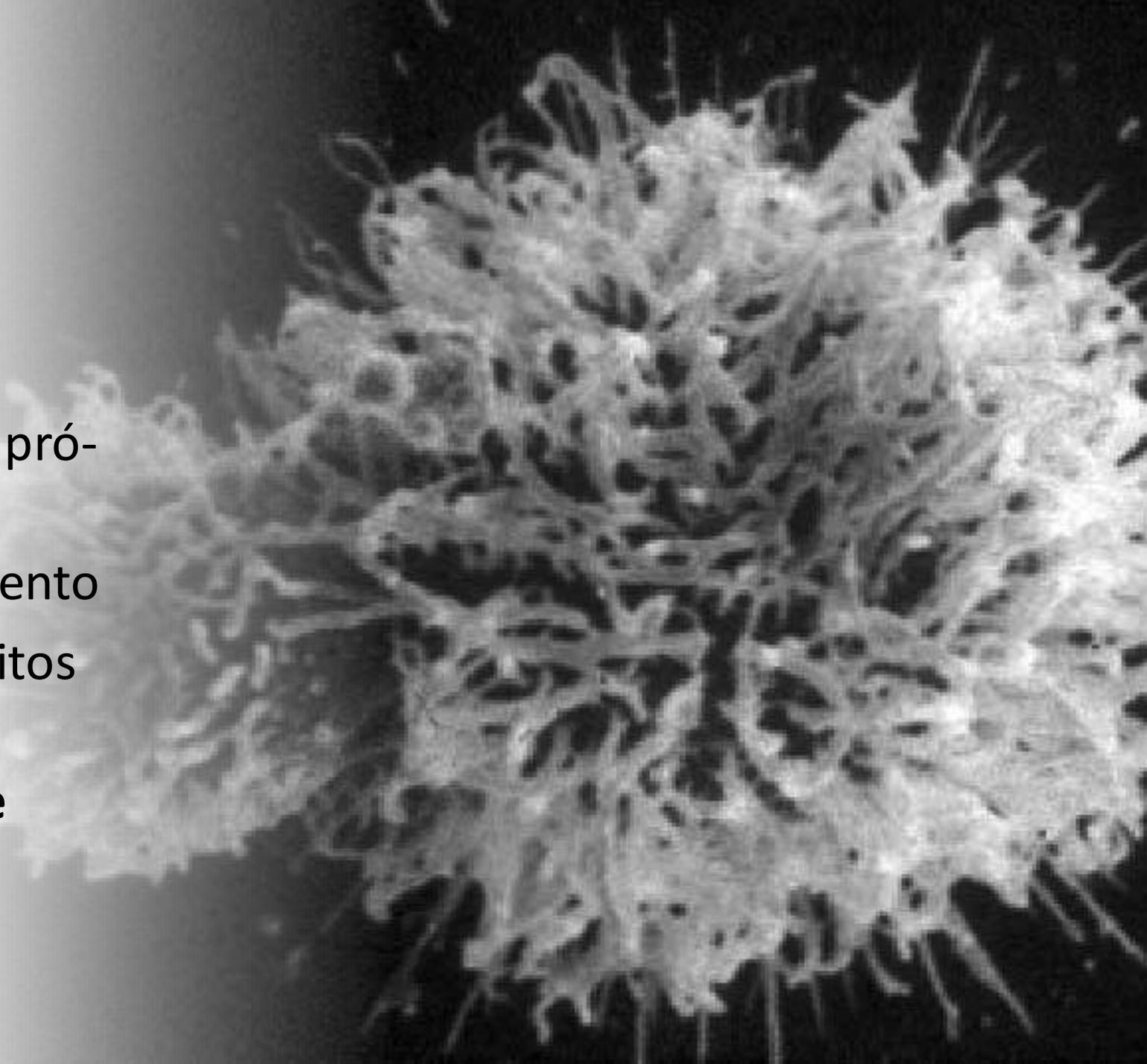
Cápsula polissacarídica: maior fator de virulência

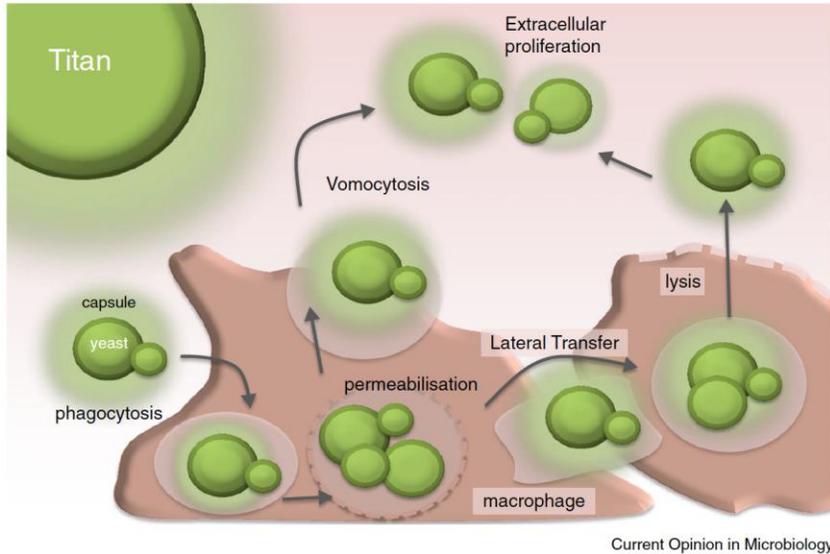


- Leveduras possuem uma estrutura redonda típica as envolvendo
- Formada por polissacarídeos: glucuronoxilomanana (GXM) e galactoxilomanana (GalXM)
- Esta característica é importante para a patogenicidade e para o diagnóstico laboratorial.

Função da cápsula : evasão do sistema imunológico

- Inibe produção de citocinas pró-inflamatórias
- Depleta o sistema complemento
- Reduz a migração de leucócitos para os sítios de inflamação
- **Citotóxica – induz apoptose**
- **Barreira anti-fagocítica**





Taylor-Smith ; May. Current Opinion in Microbiology 2016, 34:67–74

MINIREVIEW

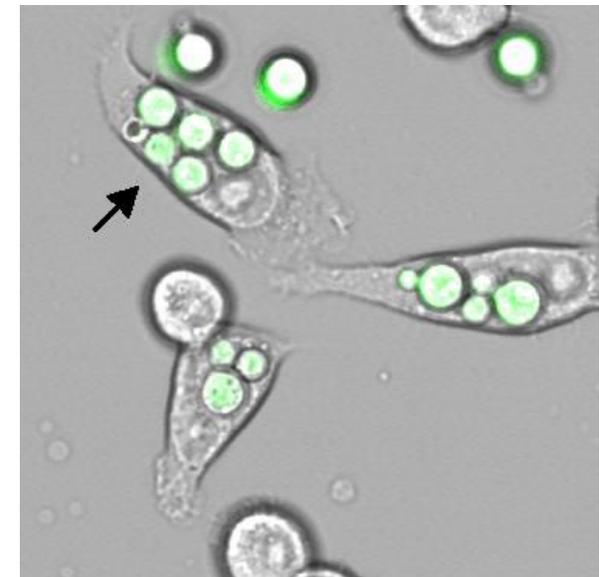
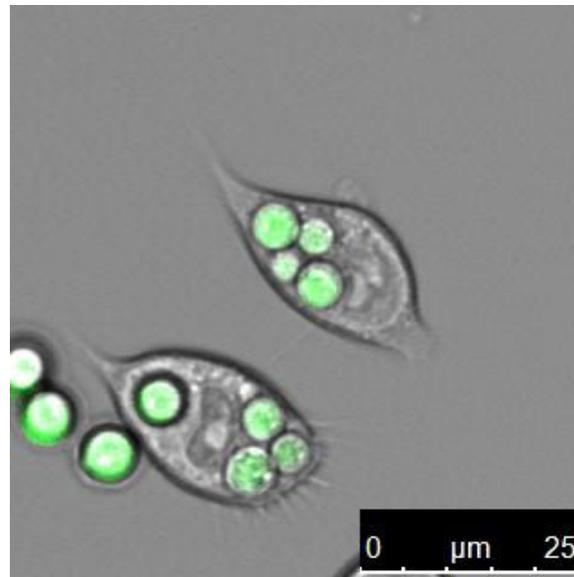
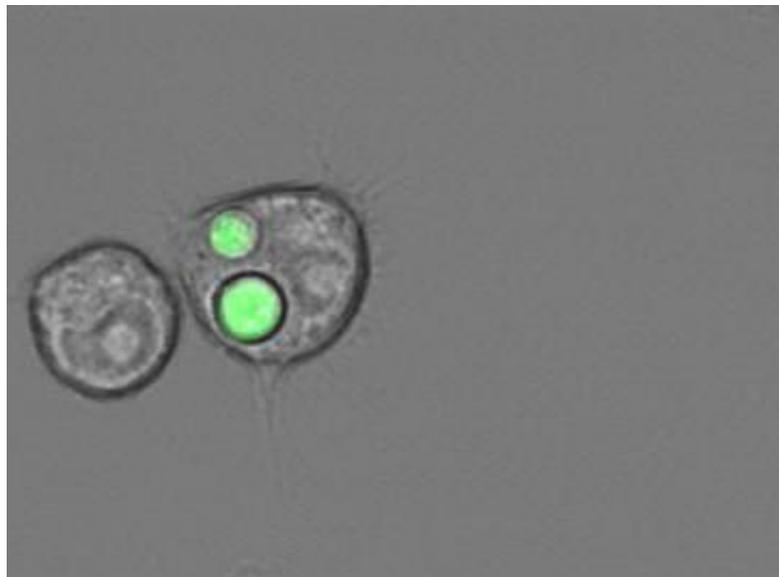
FEMS Immunol Med Microbiol 64 (2012) 147–161

Catch me if you can: phagocytosis and killing avoidance by *Cryptococcus neoformans*

Rocío García-Rodas & Oscar Zaragoza

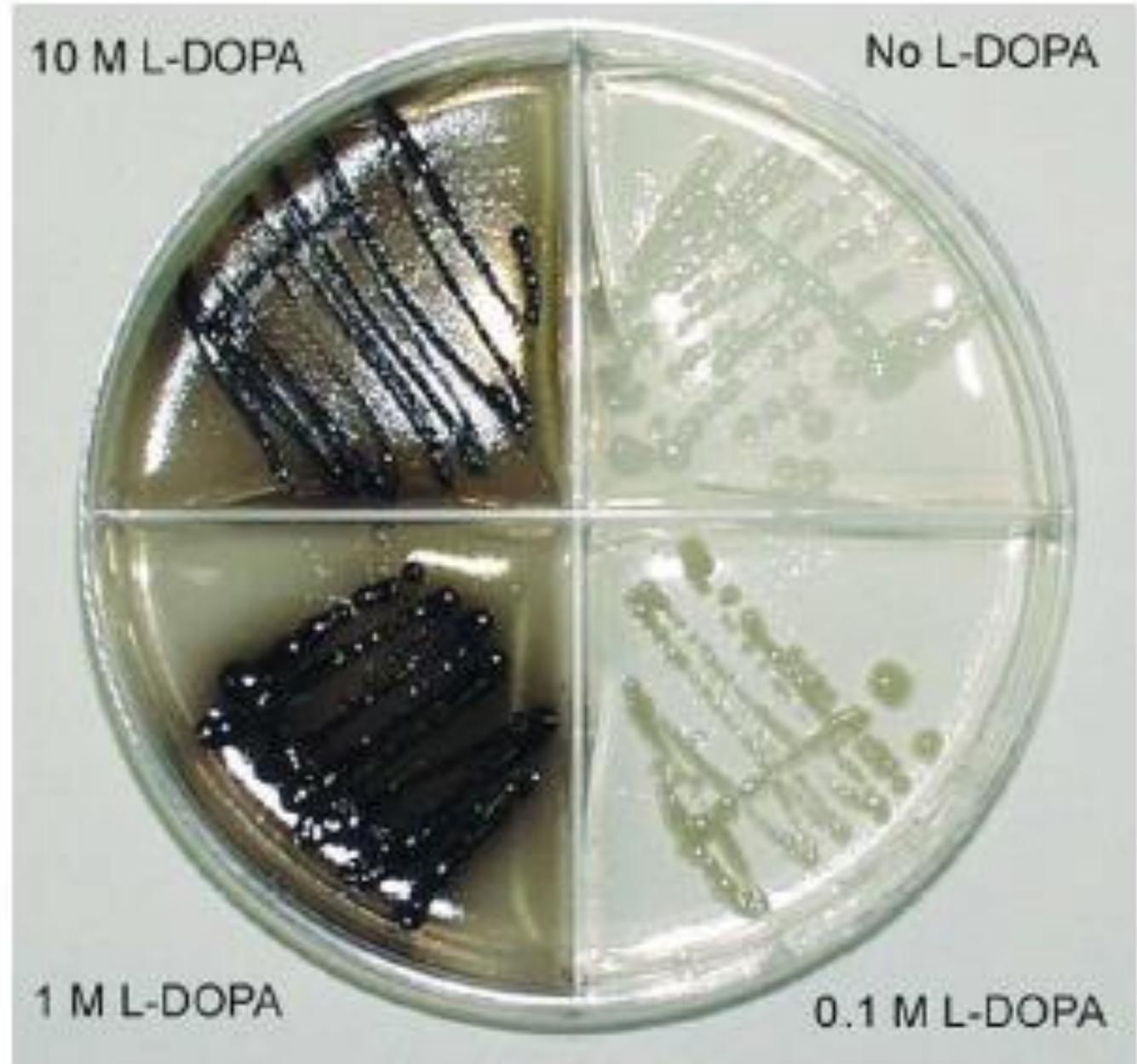
Mycology Reference Laboratory, National Centre for Microbiology, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

- **Vídeo S1.** Intracellular replication.
- **Vídeo S2.** Macrophage division and fusion.
- **Vídeo S3.** Yeast extrusion from infected macrophages.



Melanina

- Cor amarelo ao preto
- Insolúvel em solventes orgânicos
- Resistente à ácidos e bases fortes
- Polímero de compostos fenólicos e/ou indólicos



Effect of the Laccase Gene, *CNLAC1*, on Virulence of *Cryptococcus neoformans*

By S.D. Salas,* J.E. Bennett,* K.J. Kwon-Chung,† J.R. Perfect,§ and P.R. Williamson||

The Journal of Experimental Medicine • Volume 184 August 1996 377–386

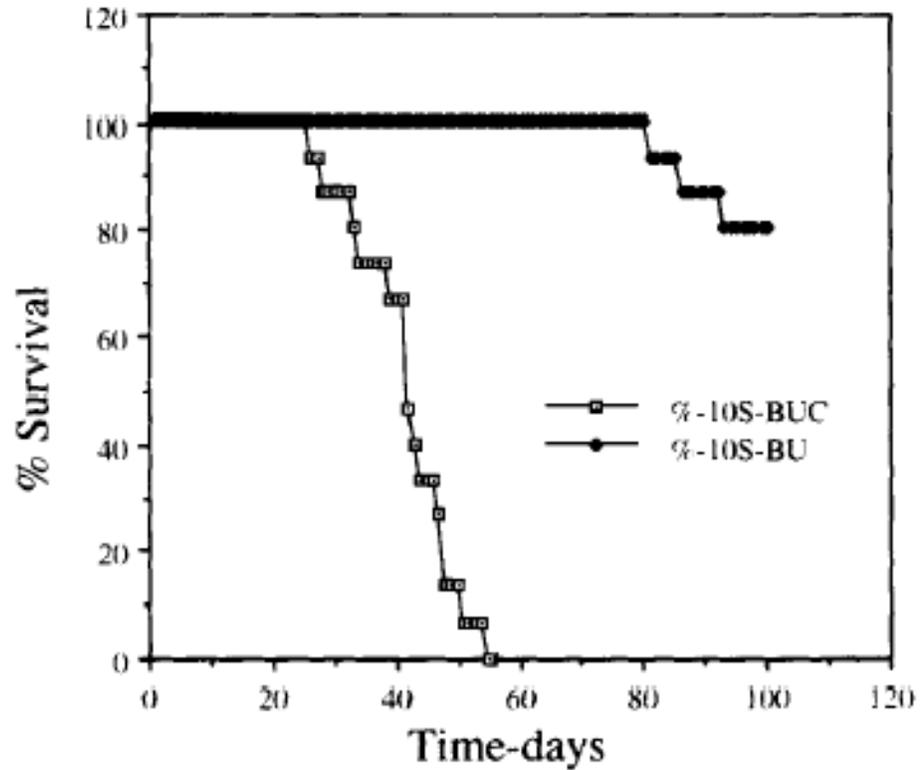
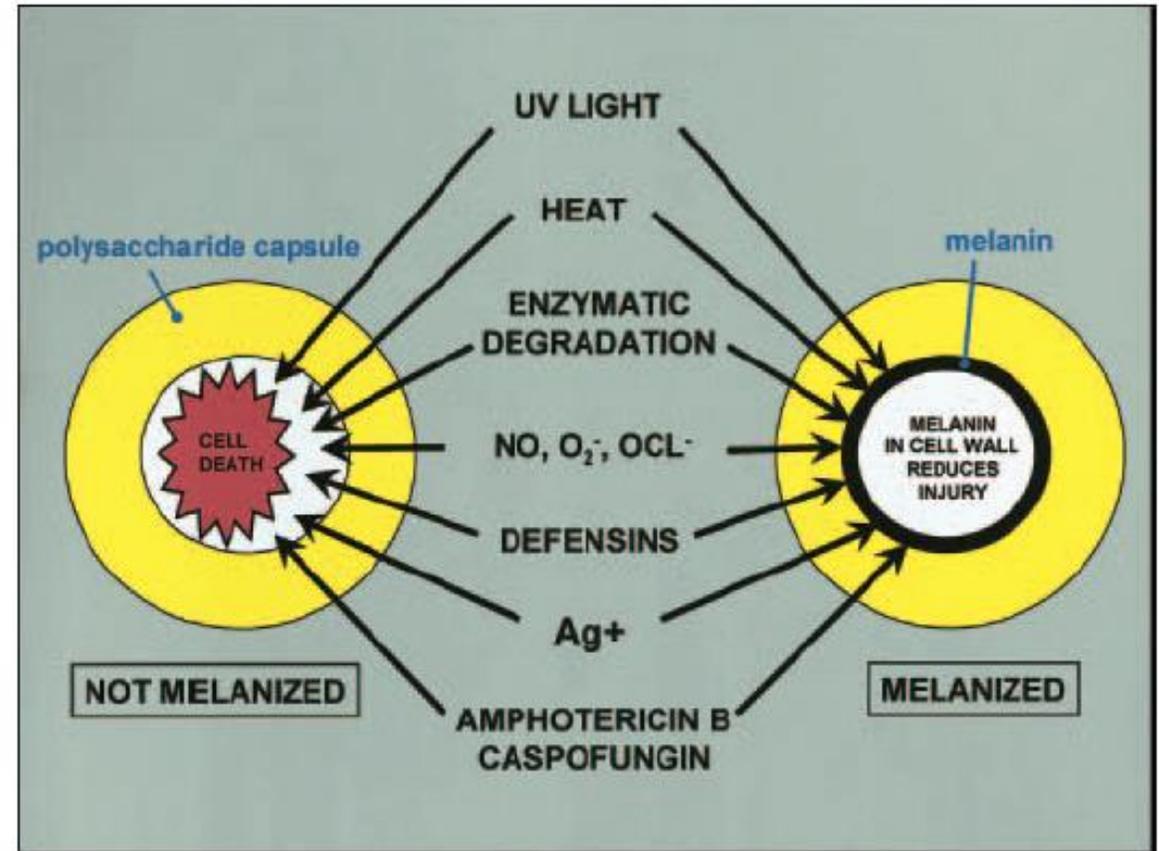


Figure 5. Virulence of the 10S mutants in mice. Percent survival of mice plotted versus time (days). Strains 10S-BUC, Mel⁺, and 10S-BU, Mel⁻, at infecting dosage of 3×10^6 cells/mouse.



Nosanchuk; Casadevall, 2003.

Disseminação para o SNC

Mecanismos de entrada de *Cryptococcus* no Sistema Nervoso Central (Barreira hematoencefálica)

- Trojan horse
- Transcitose
- Paracelular

Metaloprotease Mpr1
(M36 peptidase Family)

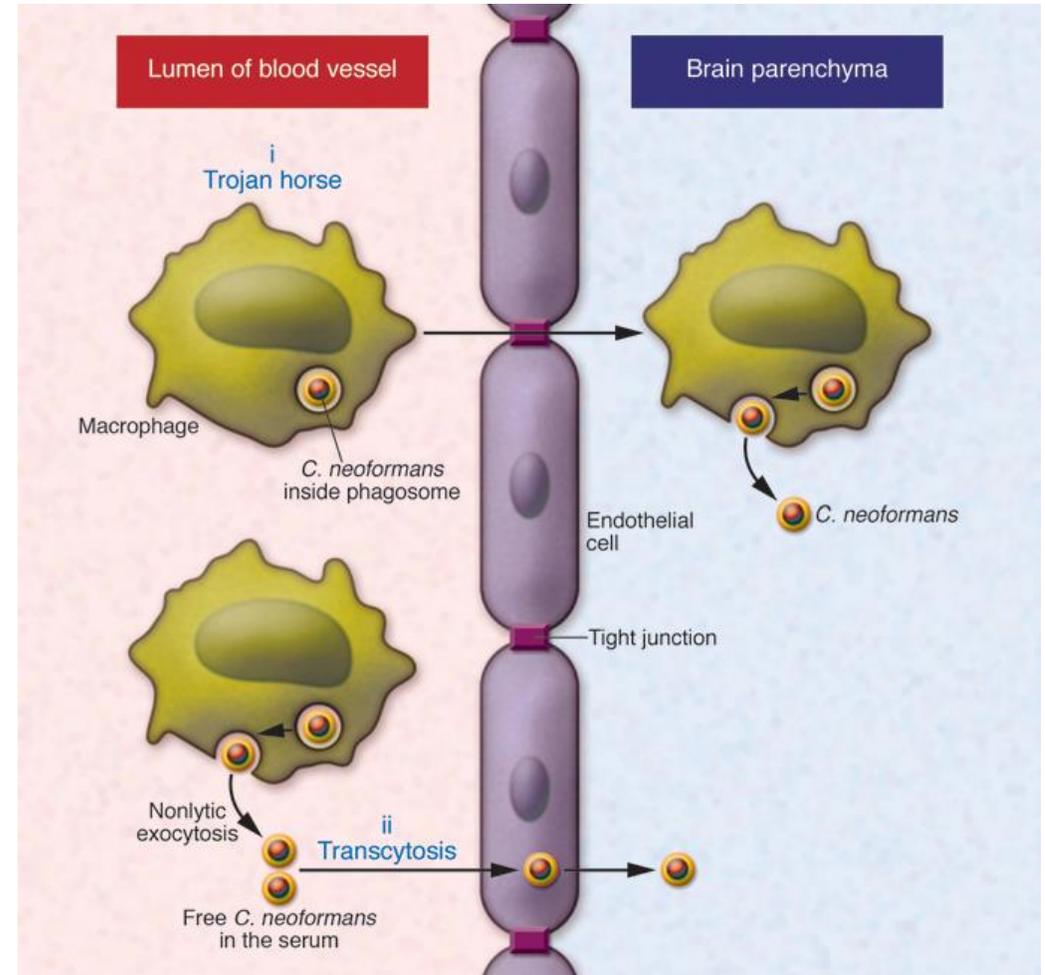
Urease

Cryptococci at the brain gate: break and enter or use a Trojan horse?

Arturo Casadevall

Department of Microbiology and Immunology and Medicine, Albert Einstein College of Medicine, New York, New York, USA.

The Journal of Clinical Investigation <http://www.jci.org> Volume 120 Number 5 May 2010



Outros fatores de virulência de *Cryptococcus*:

- Termotolerância – consegue crescer a 37 °C
- Ácido siálico na cápsula – a superfície do fungo fica carregada negativamente
- Produção de enzimas hidrolíticas – proteinase, fosfolipase, esterase, e outras
- Urease
- Metabolismo de inositol purinas e piridinas,
- Utilização de ferro para transdução de sinais

Diagnóstico e Tratamento

Summary of the diagnostic approach to cryptococcal meningitis

	Lumbar puncture available	Lumbar puncture not available or contraindicated
Rapid cryptococcal antigen test available	CSF cryptococcal antigen (preferably lateral flow assay)	Serum, plasma or whole-blood cryptococcal antigen (preferably lateral flow assay), treat immediately and refer for further investigation
No rapid cryptococcal antigen test available	CSF India ink	Prompt referral for further investigation

Guidelines for diagnosing, preventing and managing cryptococcal disease among adults, adolescents and children living with HIV. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

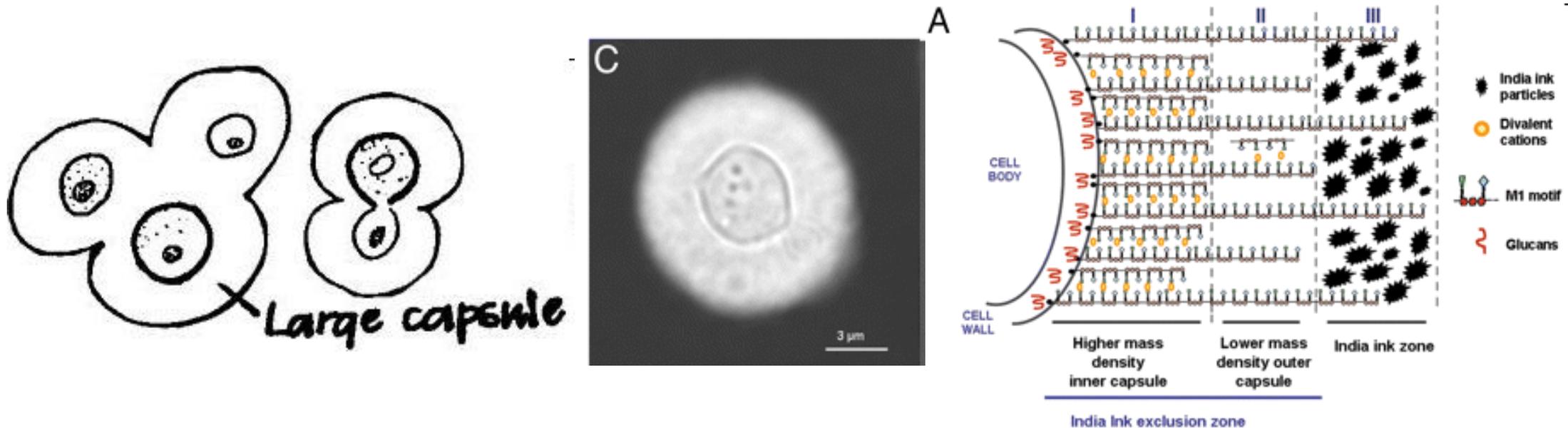
Perfect et al. Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America . Clinical Infectious Diseases 50:291–322, 2010.



GUIDELINES FOR
DIAGNOSING, PREVENTING AND
MANAGING CRYPTOCOCCAL
DISEASE AMONG ADULTS,
ADOLESCENTS AND CHILDREN
LIVING WITH HIV

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.



- **Cultura**

- **Ágar Sabouraud dextrose (SDA) + cloranfenicol**
 - Positivo em 75-90% do líquido e 35-70% de hemocultura
 - 30-35 oC
 - 48-72 h ou mais
- **Meio semente de niger (compostos fenólicos) + cloranfenicol**

SDA



SDA



Niger



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

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.

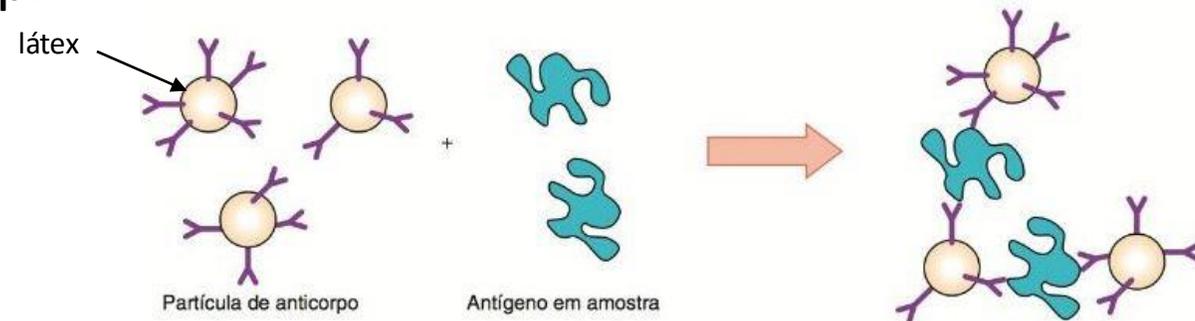


Teste sorológico:

Aglutinação em látex

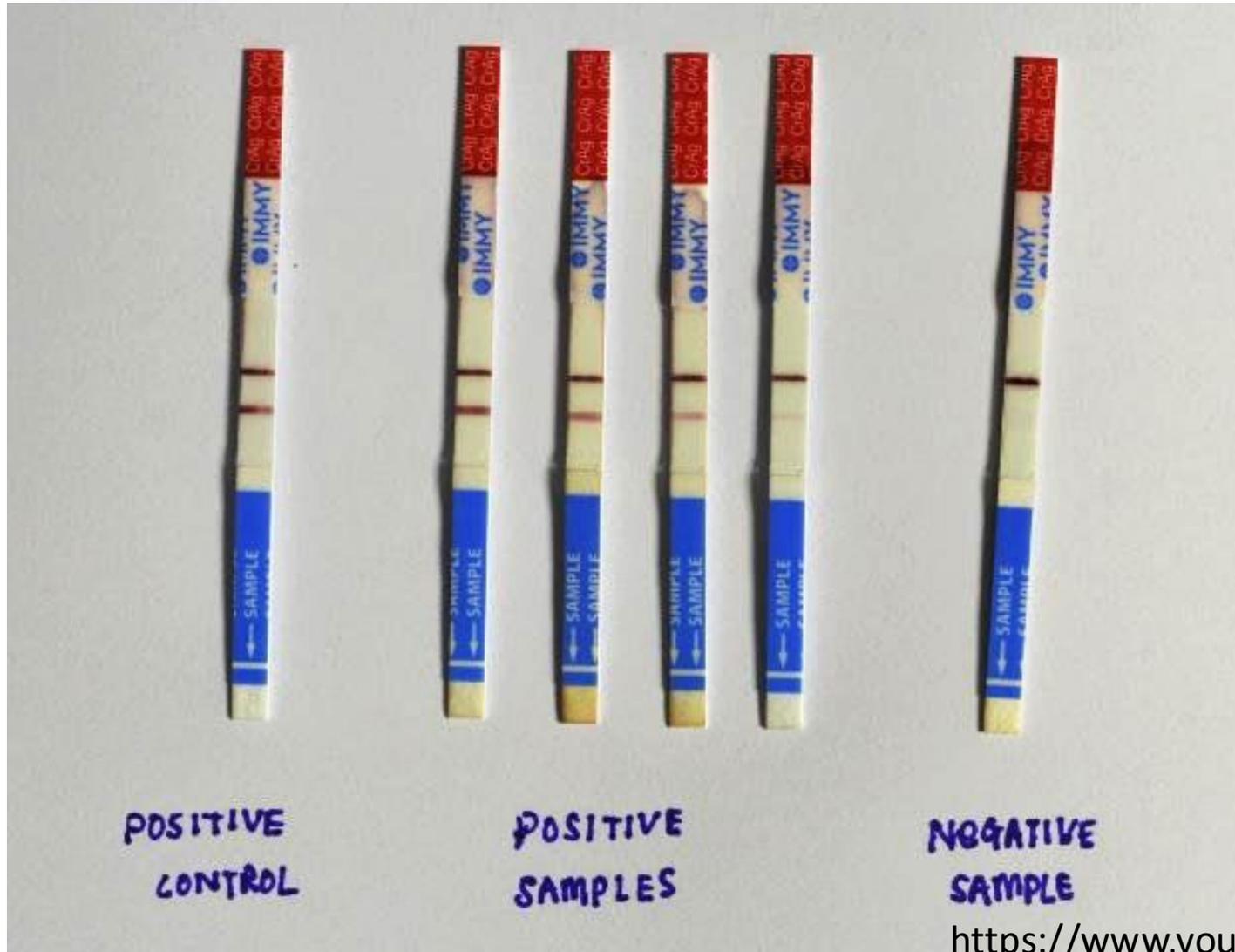
Pesquisa de antígeno capsular - (GXM)

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



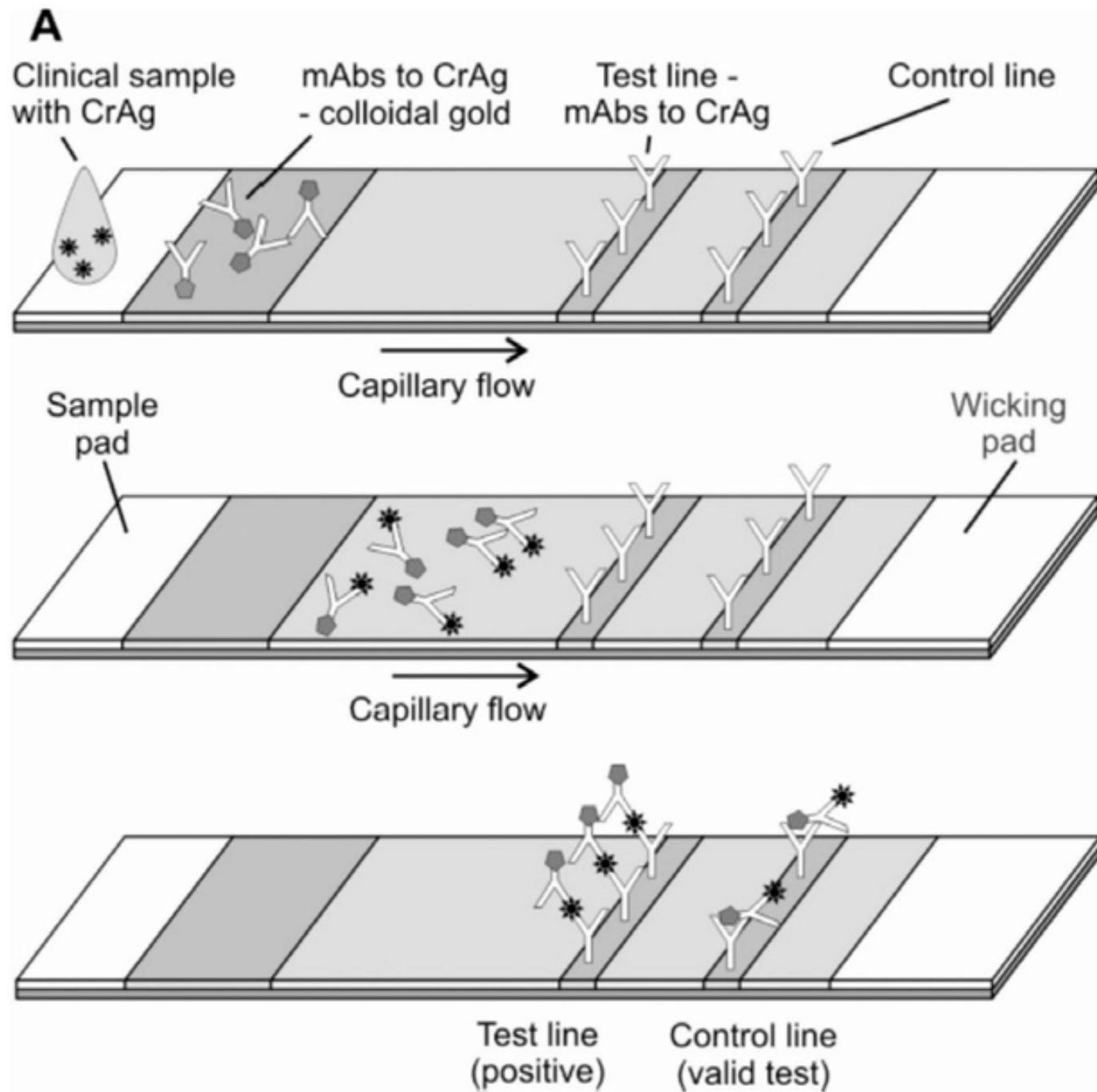
Teste sorológico:

CrAg[®] LFA Pesquisa de antígeno capsular GXM - fluxo lateral
Soro e líquido



Saiba mais:

<https://www.youtube.com/watch?v=hWaw6atnF58>



RECOMMENDATIONS ON INDUCTION, CONSOLIDATION AND MAINTENANCE ANTIFUNGAL TREATMENT REGIMENS

Table 2. Antifungal Treatment Recommendations for Cryptococcal Meningoencephalitis in Human Immunodeficiency Virus–Infected Individuals

Regimen	Duration	Evidence
Induction therapy		
AmBd (0.7–1.0 mg/kg per day) plus flucytosine (100 mg/kg per day) ^a	2 weeks	A-I
Liposomal AmB (3–4 mg/kg per day) or ABLC (5 mg/kg per day, with renal function concerns) plus flucytosine (100 mg/kg per day) ^a	2 weeks	B-II
AmBd (0.7–1.0 mg/kg per day) or liposomal AmB (3–4 mg/kg per day) or ABLC (5 mg/kg per day, for flucytosine-intolerant patients)	4–6 weeks	B-II
Alternatives for induction therapy^b		
AmBd plus fluconazole	...	B-I
Fluconazole plus flucytosine	...	B-II
Fluconazole	...	B-II
Itraconazole	...	C-II
Consolidation therapy: fluconazole (400 mg per day)	8 weeks	A-I
Maintenance therapy: fluconazole (200 mg per day) ^a	≥1 year ^c	A-I
Alternatives for maintenance therapy^b		
Itraconazole (400 mg per day) ^d	≥1 year ^c	C-I
AmBd (1 mg/kg per week) ^d	≥1 year ^c	C-I

Meningites criptocócica

Indução: L-AMB + 5-FC

Consolidação: FLC

Manutenção: FLC

Guidelines for diagnosing, preventing and managing cryptococcal disease among adults, adolescents and children living with HIV. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Perfect et al. Clinical Practice Guidelines for the Management of Cryptococcal Disease: 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America . Clinical Infectious Diseases 50:291–322, 2010.

Estudo Dirigido

- Quais são os agentes etiológicos da criptococose?
- Quais são as principais formas clínicas da criptococose?
- Há diferenças epidemiológicas entre os dois complexos de espécies de *Cryptococcus*? Cite brevemente.
- Descreva brevemente a fisiopatologia da criptococose.
- Quais os principais fatores de virulência de *Cryptococcus* spp.?
- Explique as funções para a cápsula polissacarídica e melanina?
- Qual a importância da cápsula polissacarídica no diagnóstico da criptococose?
- Quais métodos podem ser usados no diagnóstico da criptococose?
- Qual a forma de tratamento da meningite criptocócica?
- Qual a forma de tratamento da criptococose pulmonar?



• Q • A

IA ANTIFÚNGICA

ICR'

E-mail: ishidakelly@usp.br