



ETIOPATOGENIA E DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE CRÍPTOCOCOSE EM PACIENTES COM AIDS

Marcelo Augusto Feitosa Oliveira (1); Thamara Rodrigues de Melo (2); Daniela Pontes Andrade Lima Vital (3)

(1) Faculdade Maurício de Nassau, marcelo16augusto@hotmail.com; (2) Faculdade de Ciências Médicas, th.rmel@outlook.com; (3) Faculdade de Ciências Médicas, danielapontesl@yahoo.com.br

Resumo: A Criptococose é uma infecção de caráter agudo, sub-agudo ou crônico, causada por fungos leveduriformes encapsulados do gênero *Cryptococcus* que possui cerca de 70 espécies, porém a espécie *Cryptococcus neoformans* é passível de causar o quadro patológico de Criptococose, e em pacientes imunodeprimidos essa patologia é mais severa principalmente pela virulência que a levedura apresenta, como cápsula polissacarídica, produção de melanina, ureases, fosfolipases e proteinases, que podem mascarar sua presença no organismo. O presente trabalho teve como objetivos descrever a etiopatogenia da Criptococose, seu diagnóstico laboratorial, como também a sua importância. Uma vez no organismo as manifestações clínicas incluem quadros assintomáticos onde o pulmão é frequentemente acometido, porém nenhuma sintomatologia é evidenciada principalmente pela ação do sistema imunológico, pulmonar, neurocriptococose, disseminada e cutânea primária. O diagnóstico laboratorial da criptococose é realizado a partir de métodos que visam à pesquisa do fungo, identificação de sua espécie e obtenção de informações sobre a patogenicidade. A identificação presuntiva pode ser obtida a partir do estudo em preparações em tinta nanquim para as cápsulas polissacarídicas ou a realização de testes rápidos da urease, e quando se trata de tecidos as melhores formas de diagnóstico direto são as técnicas histopatológicas. No imunodiagnóstico é recomendada a pesquisa do antígeno polissacarídico cápsular (CrAg), fundamentado na reação de aglutinação. Os testes imunoenzimáticos apresentam uma alta sensibilidade e especificidade. Técnicas moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) estão sendo utilizadas com o tempo para diagnóstico da Criptococose. Conclui-se que uma vez que o paciente esteja infectado o melhor a se proceder é realizar os exames laboratoriais com o melhor material possível para um melhor auxílio nas abordagens, visando uma rapidez no seu resultado, e conseqüentemente, tratamento do paciente.

Palavras-chave: Criptococose, AIDS, *Cryptococcus neoformans*, Diagnóstico Laboratorial.

INTRODUÇÃO: A Criptococose é uma infecção de caráter agudo, sub-agudo ou crônico, causada por fungos leveduriformes encapsulados do gênero *Cryptococcus*. Por ser uma doença contraída originalmente pela via respiratória o foco geralmente é pulmonar, porém pode se tornar disseminada, afetando outros órgãos, principalmente o sistema nervoso (OLIVEIRA, J. C., 2012).

O gênero *Cryptococcus* possui cerca de 70 espécies (KURTZMAN *et al.*, 2011 *apud* ARAÚJO JUNIOR *et al.*, 2015), porém a espécie *Cryptococcus neoformans* (*Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* e *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*) é passível de causar o quadro patológico de criptococose. Estudos comprovam que o habitat desse fungo encapsulado é o solo e, principalmente, fezes de pombos. Porém as aves não desenvolvem doença clínica devido a sua temperatura corporal elevada (40°C) impedindo o crescimento dos



fungos, pois eles necessitam da temperatura em torno de 37°C, tornando-se assim apenas reservatórios para o microrganismo (SIDRIM & MOREIRA, 1999).

A Criptococose é considerada uma infecção oportunista que pode ser fatal para pessoas com o sistema imunológico deprimido, como é o caso de pacientes com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Esses fungos podem ser transmitidos de um indivíduo para outro, porém o mesmo não acontece com pessoas imunocompetentes (TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L., 2012)

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), principalmente do tipo 1, infecta o nosso sistema imunológico resultando numa progressiva imunossupressão na maioria das pessoas não tratadas (COHEN & WALKER, 2001), o que acaba implicando numa maior chance dessas pessoas se infectarem com agentes microbianos.

Cryptococcus neoformans é uma grande causa de doenças em pessoas HIV-positivas. De acordo com o Centers for Disease Control and Prevention (2015) existem, anualmente, cerca de 1 milhão de casos de meningite criptocócica em todo o mundo e que acarretam aproximadamente 650.000 casos de morte. O maior número de relatos em pacientes HIV-positivos acontece na África Subsaariana, onde pode haver mais óbitos por criptococose do que por tuberculose.

Por ser uma doença de caráter fatal para pacientes imunodeprimidos é necessário se fazer acompanhamento ao início de sintomas relacionados e principalmente a realização do diagnóstico laboratorial.

De acordo com tais pressupostos o presente trabalho teve como objetivos descrever a etiopatogenia da Criptococose, seu diagnóstico laboratorial, como também a sua importância.

METODOLOGIA: Foi realizada uma pesquisa bibliográfica em livros, periódicos e artigos científicos abordando o tema de Criptococose. As palavras-chave utilizadas para encontrar esses trabalhos foram “Criptococose, *Cryptococcus neoformans*, AIDS”. Os livros e trabalhos encontrados datam do período de 1999-2017. Os meios de pesquisa utilizados foram o Scielo, Periódicos da CAPES, Google Acadêmico e a base de dados do LILACS. Foram incluídos 27 artigos disponíveis online na íntegra e gratuitamente no idioma de publicação inglês, espanhol e português.



RESULTADOS E DISCUSSÃO: Existem cinco sorotipos do *C. neoformans* (A-D) que estão correlacionadas com duas variedades do mesmo, a var. *gattii* (sorotipos B e C) e var. *neoformans* (sorotipos A e D), que posteriormente foi evidenciado que deveria ser dividido em var. *neoformans* (D) e var. *grubii* (A), e há a variedade híbrida AD entre a var. *neoformans* e *grubii* (RIBAS; BAEZA; RIBEIRO, 2011). Evidências indicam que a contaminação por esse fungo oportunista acontece por inalação do esporo, porém a doença não se propaga entre humanos. O fungo germina produzindo leveduras encapsuladas, onde um hospedeiro imunocompetente pode eliminar a infecção sem o uso de tratamentos (WEBSTER & WEBER, 2007).

A cápsula polissacarídica formada pelo *C. neoformans* é o fator responsável pela virulência, pois a mesma mascara os componentes antigênicos para que o fungo não seja fagocitado pelas células de defesa e possa proliferar nos tecidos (DEACON, 2006).

A melanina é dada como outro fator de virulência do *C. neoformans*, protegendo o mesmo contra estresses físicos, oxidantes, causar uma menor susceptibilidade a degradação enzimática e morte por peptídeos microbicidas, além de ter sido constatado que a mesma o protege contra agentes antifúngicos (IKEDA *et al.*, 2003).

As fosfolipases podem, eventualmente, aumentar a virulência ajudando o fungo a penetrar as barreiras fosfolipídicas para se replicar, por exemplo, em amebas como proposto em estudos (LEVITZ, 2001). As proteinases atuam destruindo imunoglobulinas, proteínas do complemento, além de degradar tecidos do hospedeiro (CASADEVALL; PERFECT, 1998 *apud* CAMPOS; BARONI, 2010). Por sua vez, as ureases são metaloenzimas que catalisam a hidrólise de ureia para amônia e carbamato, resultando no aumento do pH. Por ser uma enzima de importante virulência inibidores da urease e vacinas são necessárias para uso clínico (COX *et al.*, 2000).

Epidemiologia: A Criptococose tem como um dos principais agentes etiológicos *Cryptococcus neoformans*, isolado de excrementos de pombos e psitacídeos, que acomete o homem, animais silvestres e domésticos. (QUEIROZ *et al.*, 2008).

No estudo de Reolon e colaboradores (2004) foram investigadas 88 amostras de excretas de pombos em cinco ambientes diferentes na cidade de Porto Alegre (RS) e 100% das amostras foram positivas para *C. neoformans*. Mesmo sendo rara, a criptococose pode ser fatal para hospedeiros imunocomprometidos e possuindo diversas fontes ambientais, estudos



epidemiológicos devem ser indispensáveis para a identificação de microfocos desse fungo, para que se possam adotar medidas preventivas.

De acordo com o Ministério da Saúde (2016), no Brasil, do ano 2000 até junho de 2016, foram notificados 634.051 casos de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Anualmente, uma média de 41,1 mil casos de AIDS foram registrados nos últimos cinco anos.

Mundialmente, 957.900 casos de Meningite Criptocócica ocorrem por ano aproximadamente, com maior incidência na África Subsaariana. Uma forma de modificar tal quadro é amplificar o acesso aos antirretrovirais para o HIV, para reduzir substancialmente o risco de infecção por *C. neoformans* (PARK *et al.*, 2009).

Em pacientes com AIDS a reativação da infecção latente, ou seja, uma forma “não-infecciosa” com períodos intermitentes de reativação, causa diversos episódios de Meningite Criptocócica apresentando uma meningoencefalite com sintomas de mal-estar, dor de cabeça, febre e, posteriormente, alterações visuais e mentais (JARVIS & HARRISON, 2007).

Manifestações clínicas: Ao inalar os esporos o organismo pode desenvolver diversos quadros clínicos, sendo eles: assintomático (o pulmão é frequentemente acometido, porém nenhuma sintomatologia é evidenciada principalmente pela ação do sistema imunológico), pulmonar, neurocriptococose, disseminada e cutânea primária (SIDRIM & MOREIRA, 1999).

O acometimento dos pulmões é o segundo mais frequente após o Sistema Nervoso Central (SNC). Nesse quadro clínico a febre, tosse com expectoração mucoide e sintomas constitucionais como suor noturno, emagrecimento e fraqueza podem estar presentes, já derrame pleural acontece em menos de 10% dos casos. É comum essa doença manifestar-se como pneumonia (GRUMACH *et al.*, 2008).

Dependendo do hospedeiro, do inóculo e da virulência, o patógeno pode disseminar de forma aguda ou após um período de latência para locais extrapulmonares com maior afinidade pelo SNC. A meningite criptocócica deve sempre ser incluída nos diferentes diagnósticos de meningoencefalite aguda ou crônica, já que os sintomas não são específicos. Os pacientes apresentam febre, cefaleia, mal-estar, e status mental alterado por semanas. Outros sintomas menos evidenciados podem surgir como papiloedema, meningismo, paralisia do nervo craniano e nível consciente deprimido (BICANIC & HARRISON, 2004).

Tratando-se de pacientes imunodeprimidos essa manifestação neurológica ocorre de



forma aguda, apresentado uma elevação da carga fúngica e sintomatologia bastante variada, podendo apresentar poucos sinais e sintomas. Ao portador de HIV que apresentar febre, cefaleia, demência progressiva e confusão mental é necessário suspeitar de meningite criptocócica (BACKES *et al.*, 2016).

C. neoformans produz melanina durante a infecção. A síntese dessa melanina requer lacase, uma enzima que catalisa a polimerização de pigmentos na presença de certos componentes. A síntese intracelular da melanina é transferida para a parede celular tornando o fungo menos suscetível a antifúngicos, fagócitos, radiação ultravioleta e outros. *C. neoformans* tem um tropismo pelo cérebro que tem sido correlacionado com a presença de altas concentrações de precursores para atividade da lacase nesse sítio (COLOMBO & RODRIGUES, 2015).

No caso relatado por Pantoja e colaboradores (2009) o paciente possuía criptococose disseminada com sintomas inicialmente neurológicos por 4 meses, com subsequentes manifestações pulmonares caracterizadas por dispneia e tosse seca, com sintoma final de uma massa subcutânea em braço direito. Já no caso reportado por Daher e colaboradores (2015) o paciente tinha febre diária, diarreia, perda de peso, vômitos, cefaleia e convulsões generalizadas. O teste anti-HIV foi positivo. O paciente foi a óbito menos de 24h após a admissão e a autópsia revelou criptococose disseminada com envolvimento renal grave, descrito raramente pela literatura.

Diagnóstico Laboratorial: O conhecimento do material a ser utilizado para o diagnóstico é importante para a triagem inicial, desde o exame direto até a escolha dos meios de cultura. A suspeita clínica, como os dados clínicos do paciente, possibilita a agilidade dos procedimentos (PEDROSO & CANDIDO, 2006).

O diagnóstico laboratorial da criptococose é realizado a partir de métodos que visam à pesquisa do fungo, identificação de sua espécie e obtenção de informações sobre a patogenicidade. Tais métodos incluem o exame direto a partir de materiais como escamas, pelos, pele, unhas, pus, escarro, urina, fezes e outras secreções que podem ser feitos a fresco. Exames histológicos e cultura também são utilizados (LIMA *et al.*, 2008).

No estudo realizado por Pinto Junior e colaboradores (2006) a urina revelou ser o espécime clínico mais importante para o diagnóstico da forma disseminada sem o acometimento meníngeo e segundo mais importante com o acometimento meníngeo, e se



mostrou de grande utilidade por sua fácil obtenção e menor risco biológico. Recomenda-se uma coleta matinal de três dias consecutivos e cultivando-o em meio Ágar Manitol Salgado (MSA), que detecta um número mínimo de colônias de *C. neoformans* pela cor marrom escura.

A identificação presuntiva pode ser obtida a partir do estudo em preparações em tinta nanquim para as cápsulas polissacarídicas ou a realização de testes rápidos da urease, ou ambos. A identificação definitiva pode ser dada a partir das provas bioquímicas. Alguns indicativos como bom crescimento em placas com ágar sangue incubadas entre 35°C e 37°C, colônias de aspecto mucoide e ausência de crescimento em meios contendo cicloeximida indicam a presença desse fungo (HENRY, 2008).

Como já foi abordado anteriormente, há duas variedades de *C. neoformans* que podem ser diferenciadas no momento do diagnóstico laboratorial permitindo uma agilidade no processo. O meio Canavanina-glicina-azul de Bromotimol (CGB) permite diferenciar as variedades desse fungo. A interpretação dos resultados se dá pela coloração do meio positivo, onde a cor amarela ou amarelo-verde indica *C. neoformans* var. *neoformans* e a cor azul de cobalto indica *C. neoformans* var. *gattii* (PÉREZ *et al.*, 2003).

Quando se trata de tecidos as melhores formas de diagnóstico direto são as técnicas histopatológicas, sendo elas: Hematoxilina-Eosina, seu princípio implica numa reação tecidual, porém não evidencia as estruturas fúngicas; Grocott-methenamine silver, pode ser chamada de impregnação pela prata, é a mais sensível e cora a parede celular dos fungos, porém possui um alto custo; Mucicarmin de Mayer realiza a diferenciação de *Cryptococcus* de outros fungos similares em tamanho e forma corando o envelope celular, mas sua limitação implica na insuficiência do diagnóstico de *Cryptococcus* deficiente de cápsula; Fontana-Manson, que evidencia a parede celular por reações com pigmentos da melanina, mas possui, também, um alto custo (GAZZONI; PEGAS; SEVERO, 2008).

No imunodiagnóstico da criptococose é recomendada a pesquisa do antígeno polissacarídico cápsular (CrAg), fundamentado na reação de aglutinação. Os testes imunoenzimáticos apresentam uma alta sensibilidade e especificidade, utilizando sistemas policlonais e monoclonais, porém ainda não são amplamente utilizadas nos laboratórios (FERREIRA; ÁVILA, 2011).

O ensaio imunoenzimático não requer um pré-tratamento da amostra e possui uma



sensibilidade reduzida para o CrAg dos sorotipos C e D. A aglutinação em látex requer um pré-tratamento da amostra com pronase e possui baixa sensibilidade para o CrAg do sorotipo C. Já o ensaio de fluxo lateral não requer pré-tratamento da amostra e possui alta sensibilidade para todos os sorotipos. Essa técnica usa a combinação de dois anticorpos monoclonais, onde um é altamente reativo com os sorotipos A, B e C, e o segundo é altamente reativo com A e D. Usados juntos esses anticorpos são reativos com o CrAg de todos os sorotipos de *Cryptococcus*, caracterizando uma vantagem em relação ao ensaio imunoenzimático e a aglutinação em látex (VIDAL; BOULWARE, 2015).

Técnicas moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) estão sendo utilizadas com o tempo para diagnóstico da criptococose em amostras biológicas como líquido, sangue, secreções, biópsias e outros. Para realizar o diagnóstico é necessário isolar o ácido nucléico da levedura, amplificar o mesmo por PCR e analisar as bandas da eletroforese em gel de poliacrilamida ou agarose (BACKES *et al.*, 2016).

Outros métodos moleculares para genotipagem de *Cryptococcus* incluem marcadores moleculares que utilizam enzimas de restrição como os Polimorfismos no Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP) e Polimorfismos no Comprimento de Fragmentos Amplificados (AFLP) (KELLEY *et al.*, 2014).

No estudo realizado por Paschoal e colaboradores (2004) a técnica de PCR apresentou maior sensibilidade do que outro teste, como o exame direto com tinta da China e a cultura. Após a extração do DNA, a amostra foi amplificada no termociclador com *Taq* DNA polimerase e primers com grande especificidade para os sorotipos A, B, C e D. Por último, a separação pela eletroforese foi feita no gel de poliacrilamida. A técnica foi sensível o bastante para detectar 1 célula/mL em amostras de LCR.

Estudos clínico-laboratoriais: Spina-Tensini e colaboradores (2017) analisaram amostras positivas de Líquido Cefalorraquidiano (LCR) após cultura em meios Sabouraud, Niger e Brain-Heart Infusion (BHI), onde 96% dos pacientes tinham infecção por *C. neoformans* e apenas 4% infectados por *C. gattii*. O gênero masculino se mostrou mais infectado, totalizando 76% do estudo e 82% dos pacientes eram portadores do HIV.

No estudo de Moreira e colaboradores (2006) as cepas de *C. neoformans* foram evidenciadas a partir de amostras de LCR, sangue, secreção traqueal e lesão cutânea, onde todas foram analisadas por exame direto com e sem tinta da China e cultivadas em Ágar



Sabouraud. De todos os 96 casos, 89 foram identificados como *C. neoformans* var *neoformans* e 7 como *C. neoformans* var *gattii*. 81,3% dos pacientes tinham AIDS, e outros fatores de risco como Lúpus eritematoso sistêmico, neoplasias, cirrose hepática e outros.

Fernandes e colaboradores (2000) coletaram 50 amostras de LCR de pacientes com AIDS, realizando exame direto com tinta da China e cultivo e Ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol a temperatura ambiente e incubados a 37°C, das quais 47 foram positivas para o fungo em questão. Já em outro estudo acerca de micoses sistêmicas em pacientes infectados pelo HIV de 60 amostras, 30 foram positivas para *C. neoformans* onde o principal sítio de isolamento foi o LCR, seguido por pulmão, sangue, urina, linfonodos e medula óssea (RIBEIRO *et al.*, 2009). Ambos os estudos comprovam o tropismo do *C. neoformans* pelo SNC, uma vez que a maioria das amostras positivas foi de LCR.

CONCLUSÕES: A Criptococose é uma infecção causada pelo gênero *Cryptococcus* capaz de apresentar uma sintomatologia variável, como manifestações pulmonares ou disseminadas. Em pacientes imunodeprimidos essa patologia é mais severa, principalmente pela virulência que a levedura apresenta (cápsula polissacarídica, produção de melanina, ureases, fosfolipases e proteinases) que pode mascarar sua presença no organismo.

A manifestação neurológica é bastante comum em pacientes com AIDS que são infectados pelo fungo, podendo os mesmos apresentar febre, cefaleia, mal-estar, confusão mental e demência. Em casos não tratados o óbito é evidente. Portanto, se faz necessário a realização de exames laboratoriais que auxiliam no diagnóstico da Criptococose.

O material a ser analisado direciona qual melhor análise proceder, como escolher o melhor meio de cultura. As técnicas histopatológicas utilizam colorações que evidenciam a presença do fungo em tecidos. As técnicas imunológicas necessárias incluem ensaios imunoenzimáticos, aglutinação em látex e ensaios de fluxo lateral, sendo este último mais recomendado devido a sua alta sensibilidade. O diagnóstico molecular necessita da PCR e marcadores moleculares, porém o mesmo não é muito implementado por seu elevado custo.

Conclui-se que uma vez que o paciente esteja com Criptococose o melhor a se proceder é realizar os exames laboratoriais com o melhor material possível para um melhor auxílio nas abordagens, visando uma rapidez no seu resultado, e conseqüentemente, tratamento do paciente.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO JUNIOR, E. C.; TÁPARO, C. V.; UCHIDA, C. Y.; MARINHO, M.: Crptococcus: isolamento ambiental e caracterização bioquímica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, V. 67, N. 4, p.1003-1008, 2015.
- BACKES, P; SANTOS, J. I.; BORSATTO, E. M.; REIS, M.: Diagnóstico laboratorial de *Cryptococcus* sp. no líquido. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, V. 48, N. 3, p.10-14, 2016.
- BICANIC, T.; HARRISON, T. S.: Cryptococcal meningitis. **British Medical Bulletin**, V. 72, p.99-118, 2004.
- CAMPOS, F. L.; BARONI, F. A.: Isolados de *Cryptococcus neoformans*, *C. gattii* e *C. laurentii* produtores de protease e fosfolipase. **Revista de Patologia Tropical**, V. 39, N. 2, p. 83-89, 2010.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION: *C. neoformans* **Infection Statistics**. CDC 2015. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/fungal/diseases/cryptococcosis-neoformans/statistics.html>>.
- COHEN, D. E.; WALKER, B. D.: Human Immunodeficiency Virus Pathogenesis and Prospects for Immune Control in Patients with Established Infection. **Clinical Infection Diseases**, 2001.
- COLOMBO, A. C.; RODRIGUES, M. L.: Fungal colonization of the brain: anatomopathological aspects of neurological cryptococcosis. **Anais da Acadêmia Brasileira de Ciências**. V. 87, p.1293-1309, 2015.
- COX, G. M.; MUKHERJEE, J.; COLE, G. T.; CASADEVALL, A.; PERFECT, J. R.: Urease as a Virulence Factor in Experimental Cryptococcosis. **Infection and Immunity**, V. 68, N. 2, p.443-448, 2000.
- DAHER, E. F.; NASSERALA, J. C. L.; SILVA JUNIOR, G. B.; OLIVEIRA, A. R. V.; MEDEIROS NETO, J. U.; SOUSA, A. Q.: Fatal disseminated Cryptococcosis with reanl involvement in a HIV-infected paciente. **Revista do Instituto de Medicinal Tropical de São Paulo**. V. 57, N. 4, p.365-367, 2015.
- DEACON, J. W.: **Fungal Biology**. 4.ed. Blackwell Publishing, 2006.



FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M.: **Diagnóstico Laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-ímmunes**. 2.ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2011.

GAZZONI, A. F.; PEGAS, K. L.; SEVERO, L. C.: Técnicas histopatológicas no diagnóstico de Criptococose por *Cryptococcus* deficiente de cápsula: relato de caso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, V. 41, N. 1, p.76-78, 2008.

GRUMACH, A. S., *et al.*: Consenso em Criptococose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. V. 41, N. 5, p.524-544, 2008.

HENRY, J. B.: **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais**. 20. ed. Barueri, SP: Manole, 2008.

IKEDA, R.; SUGITA, T.; JACOBSON, E. S.; SHINODA, T.: Effects of Melanin upon Susceptibility of *Cryptococcus* to antifungals. **Microbiology and Immunology**. V. 47, N. 4, p.271-277, 2003.

JARVIS, J. N.; HARRISON, T. S.: HIV-associated cryptococcal meningitis. **AIDS**, V. 21, N. 16, p.2119-2129, 2007.

KELLEY, E. J. *et al.*: Real-time PCR assays for genotyping of *Cryptococcus gattii* in North America. **BioMed Central Microbiology**, V. 14, N. 125, 2014.

LEVITZ, S. M.: Does amoeboid reasoning explain the evolution and maintenance of virulence factors in *Cryptococcus neoformans*?. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, V. 98, N. 6, p.14760-14762, 2001.

LIMA, A. O.; SOARES, J. B.; GRECO, J. B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J. R.: **Métodos de Laboratório Aplicados à Clínica**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE: **Boletim Epidemiológico – HIV/AIDS**. Ano V, N. 1, 2016.

MOREIRA, T. A.; FERREIRA, M. S.; RIBAS, R. M.; BORGES, A. S.: Criptococose: estudo clínico-epidemiológico, laboratorial e das variedades do fungo em 96 pacientes. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, V. 39, N. 3, p.255-258, 2006.

OLIVEIRA, J. C.: **Tópicos em Micologia Médica**. 3ed. Rio de Janeiro, 2012.

PANTOJA, M. G. L.; SILVEIRA, D. M. R.; SILVA, L. D.: Criptococose disseminada em



paciente imunocompetente: Relato de caso. **Revista Paraense de Medicina**, V. 23, N. 3, 2009.

PARK, B. J.; WANNEMUHLER, K. A.; MARSTON, B. J.; GOVENDER, N.; PAPPAS, P. G.; CHILLER, T. M.: Estimation of current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. **AIDS**, V. 23, N. 4, p.525-530, 2009.

PASCHOAL, R. C.; HIDRATA, M. H.; HIDRATA, R. C.; MELHEM, M. S. C.; DIAS, A. L. T.; PAULA, C. R.: Neurocryptococcosis: Diagnosis by PCR method. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, V. 46, N. 4, p.203-207, 2004.

PEDROSO, R. S.; CANDIDO, R. C.: Diagnóstico Laboratorial da Criptococose. **Newslab**. 77.ed. 2006.

PÉREZ, C.; HERNÁNDEZ, Y.; COLELLA, M. T.; ROSELLÓ, A.; HARTUNG DE CAPRILES, C.; OLAIZOLA, C.; MAGALDI, S.; MATA-ESSAYANG, S.: Identificación de *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* mediante el uso del medio canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB). **Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología**, V. 23, N. 2, p.158-162, 2003.

PINTO JUNIOR, V. L.; GALHARDO, M. C. G.; LAZÉRA, M.; WANKE, B.; REIS, R. S.; PEREZ, M.: Criptococose associada à AIDS. A importância do cultivo da urina no seu diagnóstico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, V. 39, N. 2, p.230-232, 2006.

QUEIROZ, J. P. A. F.; SOUSA, F. D. N.; LAGE, R. A.; IZABEL, M. A.; SANTOS, A. G.: Criptococose – Uma Revisão Bibliográfica. **Acta Veterinária Brasilica**, V. 2, N. 2, p.32-38, 2008.

REOLON, A.; PEREZ, L. R. R.; MEZZARI, A.: Prevalência de *Cryptococcus neoformans* nos pombos urbanos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, V. 40, N. 5, p. 293-298, 2004.

RIBAS, R. C.; BAEZA, L. C.; RIBEIRO, F. H. M. Isolation of *cryptococcus* spp. In excrements of pigeons (*columba* sp.) In the Maringá city, Pr, Brazil. **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 45-50, jan./abr. 2011.

RIBEIRO, L. C.; HAHN, R. C.; FAVALESSA, O. C.; TADANO, T.; FONTES, C. J. F.: Micoses sistêmicas: fatores associados ao óbito em



pacientes com infecção pelo vírus da Imunodeficiência Humana, Cuiabá, Estado de Mato Grosso, 2005-2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, V. 42, N. 6, p.698-705, 2009.

SIDRIM, J. J. C.; MOREIRA, J. L. B.: **Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

SPINA-TENSINI, T. *et al.*: Geographic distribution of patients affected by *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii* species complexes meningitis, pigeon and tree populations in Southern Brazil. **Mycoses**, V. 60, p.51-58, 2017.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L.: **Microbiologia**. 10ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

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. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, V. 57, N. 19, p.38-45, 2015.

WEBSTER, J.; WEBER, R.: **Introduction to Fungi**. 3ed. Cambridge University Press, 2007.