

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

SIMONE MANCINI LIDUÁRIO SUZUKI

Criptococose disseminada fatal em criança com síndrome Hyper-IgM.

Maringá

2016

SIMONE MANCINI LIDUÁRIO SUZUKI

Criptococose disseminada fatal em criança com síndrome Hyper-IgM.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientador: Prof^ªDr^ª Terezinha Inez EstivaletSvidzinski

Maringá

2016

FOLHA DE APROVAÇÃO

SIMONE MANCINI LIDUÁRIO SUZUKI

Criptococose disseminada fatal em criança com síndrome Hyper-IgM.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof^a. Dr^a. Terezinha Inez EstivaletSvidzinski
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Prof^a. Dr^a. Melyssa Fernanda Norman Negri Grassi
Universidade Estadual de Maringá

Prof^a. Dr^a. Erika Kioshima Cotica
Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em:

Local de defesa: Sala 01, Bloco 126, campus da Universidade Estadual de Maringá.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS

Sempre primeiramente À Deus pela vida e tudo o que Ele me tem dado, À quem devemos ser eternamente gratos.

À minha mãe que me mostrou desde criança a importância de estudar cada vez mais.

Ao meu marido Manoel que sempre me proporcionou a oportunidade de me qualificar.

Ao meu filho Victor e toda minha família que sempre foram compreensivos com minha ausência.

À minha querida orientadora Prof^a. Dr^a. Terezinha Inez Estivalet Svidzinski que me presenteou com a oportunidade de alcançar um sonho distante. Você me deu esta oportunidade. E fez deste caminho um caminho que para muitos é tão árduo e pesado, ser leve, seguro e prazeroso, com todo seu carinho e dedicação. Você professora não foi só exemplo de mestre, mas de uma pessoa humana, forte, querida e abençoada.

Às professoras Melyssa Negri, Patricia Bonfim e Erika Kioshima Cotica, pela paciência, ajuda e apoio durante todo o processo do mestrado.

Aos colegas do Laboratório de Micologia Médica pela ajuda e paciência em especial à Tânia Salci e ao Fabrício Moretti.

Aos professores do programa de mestrado pelos ensinamentos e trocas de experiências que enriqueceram cada encontro.

Aos colegas de turma do Mestrado em Ciências da Saúde conquistados durante esta trajetória.

Ao programa de mestrado Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá.

Muito Obrigada!

EPÍGRAFE

“Todas as coisas cooperam para o bem daqueles que amam a DEUS”.

Romanos 8:28

Criptococose disseminada fatal em criança com síndrome Hyper-IgM.

RESUMO

Criptococose é uma micose oportunista, cosmopolita, cuja incidência tem aumentado nos últimos anos. A espécie *C. neoformans* tem sido associada a pacientes com HIV/AIDS e transplantados, porém tem sido associada há outros imunocomprometimentos. A síndrome do hiper-IGM ligada ao cromossomo X (XHIGM) é um distúrbio de deficiência imunitária primária, rara, causada por mutações no gene que codifica a produção de CD40L. Caracterizada por níveis normais ou elevados de IgM e níveis normais ou diminuídos de IgG e IgA. Na literatura estão descritos até o momento apenas quatro casos de XHIGM associados com criptococose. O objetivo apresentar um estudo de caso inédito, e avaliar aspectos microbiológicos, patogênicos e sua resposta a terapêutica de um fungo isolado de portador da síndrome XHIGM. Trata-se de um estudo descritivo retrospectivo de um caso incomum, em paciente de cinco anos de idade portador da síndrome XHIGM, o diagnóstico definitivo foi tardio evoluindo ao óbito. Realizamos levantamento do prontuário, isolamento e identificação do fungo de amostras do paciente. O diagnóstico microbiológico foi realizada por exame com tinta da China do líquido céfalo raquidiano (LCR) e revelou leveduras capsuladas típicas do gênero *Cryptococcus*. A cultura do LCR em Ágar chocolate foram reveladas leveduras arredondadas, unibrotantes, capsuladas, fenol oxidase positiva em Ágar Níger, urease positivo, as quais foram identificadas por meio de caracterização fenotípica como *Cryptococcus neoformans* por meio de canavanina-glicina-bromotimol. Teste de susceptibilidade aos antifúngicos indicou sensível á todos os antifúngicos, com concentrações inibitórias mínimas de (0,5 mg/L) para Anfotericina B ,(4.0 mg/L) para fluconazol e (0,12 mg/L) para Voriconazol . A média do tamanho da cápsula do isolado clínico corresponde com a média da cápsula de *C. neoformans* ATCC 40283. A avaliação de patogenicidade feita por infecção experimental em camundongos Balb/C mostrou disseminação do fungo que atingiu o baço, pulmão e cérebro, causando importantes alterações macroscópicas de textura e tamanho dos mesmos. O tratamento com anfotericina B reduziu a carga fúngica em baço e pulmões, mas não no cérebro. Concluimos que o desfecho do paciente não pode ser atribuído exclusivamente à debilidade do hospedeiro, nem à virulência do agente ou a resistência deste aos antifúngicos, mas provavelmente à somatória de todos esses fatores.

Palavras-chave: Síndrome de hiper-IgM, *Cryptococcus*, Criptococose

Disseminated cryptococcosis fatal in children with Hyper-IgM s

ABSTRACT

Cryptococcosis is an opportunist mycosis common worldwide, the incidence has increased in recent years. It is more common in patients with HIV / AIDS and transplant, but has been linked there are other immunocompromised. The hyper-IgM syndrome, X-linked (XHIGM) is a primary immune deficiency disorder, rare caused by mutations in the gene encoding the production of CD40L. Characterized by normal or elevated levels of IgM and diminished levels or normal IgG and IgA. They were only recorded four cases of XHIGM associated with cryptococcosis. The objective of this study was to evaluate microbiological, pathogenic and its response to therapy in a patient with isolated fungus XHIGM. Trata syndrome is a retrospective descriptive study of an unusual case, in patients five years of age XHIGM carrier syndrome, definitive diagnosis was later evolving to death. We conducted a field diary, isolation and identification of patient samples fungus. The microbiological diagnosis was performed by examination with ink China spinal cerebrospinal fluid (CSF) and revealed typical encapsulated yeast *Cryptococcus* genus. The CSF chocolate agar culture were revealed rounded yeast unibrotantes, capsulated, phenol oxidase positive Agar Niger, urease positive, which were identified by phenotypic characterization as *Cryptococcus neoformans* by means of canavanine-glycine-bromothymol. Antifungal susceptibility testing the indicated minimum inhibitory concentrations (0.5 mg / L) for amphotericin B (4.0 mg / L) and fluconazole (0.12 mg / L) for voriconazole. The average size of the capsule clinical isolate corresponds to the average of *C. neoformans* ATCC 40283. The capsule pathogenicity evaluation made by experimental infection in Balb / C mice showed spread of fungus reached the spleen, lung and brain, causing significant macroscopic changes of texture and size thereof. Treatment with amphotericin B reduced the fungal load in the lungs and spleen but not in brain. We conclude that patient outcome can not be attributed solely to the weakness of the host, or the virulence of the agent or the strength of the antifungals, but probably the sum of all these factors.

Keywords: hyper-IgM syndrome, *Cryptococcus*, Cryptococcosis

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas da ABNT (Capítulos I e III) e das publicações científicas (Capítulo II): The Pediatric Infectious Disease Journal (artigo 1) disponível em:
<http://journals.lww.com/pidj/pages/default.aspx>

SÚMARIO

1. CAPÍTULO I	10
1.1.1 Síndrome HIPER IgM.....	10
1.1.2 Criptococose.....	11
1.1.3 Meningite Criptocócica.....	12
1.1.4 Fungo.....	13
1.1.5 Patogênese.....	14
1.1.6 Patogênia.....	14
1.1.7 Diagnóstico.....	15
1.1.8 Epidemiologia.....	16
1.1.9 Tratamento.....	17
1.2.0 Justificativa.....	17
1.3.0 Objetivos Gerais.....	18
1.3.1Objetivos Específico.....	18
1.4.0 Referências.....	19
2. CAPÍTULO II	23
2.1 Artigo 1. Criptococose disseminada fatal em criança com síndrome Hyper-IgM....	23
3. CAPÍTULO III	37
3.1 Conclusão.....	37
3.2 Perspectivas Futuras.....	37

CAPÍTULO I

SÍNDROME DA HIPER IgM

Entre as causas de imunocomprometimentos, a síndrome da hiper IgM (HIGM) ligada ao cromossomo X é um distúrbio de deficiência imunitária primária, rara, causada por mutações no gene que codifica o CD40L (CD154). É caracterizada por níveis normais ou elevados de IgM e níveis normais ou diminuídos de IgG e IgA (NOTARANGELO et al., 2009; LÓPEZ-HERRERA et al., 2015).

Pacientes com síndrome de hiper-IgM ligado ao X apresentam susceptibilidade variável ao fungo com relatos principalmente de associação com histoplasmose e candidíase invasiva (MALHEIRO et al., 2014).

A XHIGM, descrita por Burtin (1961), é uma síndrome que envolve vários tipos de deficiências no sistema imune, dentre elas a deficiência de CD40L foi o primeiro defeito fenotípico descoberto e, é o mais freqüente entre os indivíduos afetados (GEHA et al., 2007). XHIGM é uma imunodeficiência combinada de linfócitos T e B, rara, com freqüência estimada em 1/1000.000 nascidos (MALHEIRO et al., 2014). Entre as características clínicas e laboratoriais manifestadas por indivíduos deficientes de CD40L, destacam-se neutropenia, neoplasias, enfermidades hepáticas e respiratórias recorrentes além de infecções do sistema nervoso central (SNC), responsáveis pela alta morbidade e mortalidade destes pacientes (MALHEIRO et al., 2014; MARQUES et al., 2012).

Células T deficientes em CD40L, não são capazes de ativar o receptor CD40 em células B, resultando em diminuição da recombinação e mudança na classe de imunoglobulina (CSR) levando a baixos níveis de IgG, IgA e IgE e de níveis normais a elevados de IgM (LÓPEZ-HERREA et al., 2015; NANDA et al., 2014). Também há

comprometimento na geração tanto as células B de memória e de macrófagos, assim como das respostas de células T a agentes patogênicos intracelulares TH1.

Clinicamente, a deficiência do CD40L é caracterizada por defeitos na imunidade celular e humoral, resultando em uma susceptibilidade a infecções graves por microorganismos oportunistas como é o caso de *Cryptococcus* (NANDA et al., 2014; MALHEIRO et al., 2014)

CRIPTOCOCOSE

A criptococose até meados do século passado era rara, mas só na década de 80 passou a ser doença de grande importância, principalmente pelo aumento do número de indivíduos imunocomprometidos, especialmente a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) passando a ocupar o 4º lugar entre as doenças infecciosas nestes pacientes. Também está associada a indivíduos transplantados, com linfomas e outras condições de imunossupressão (ESPINEL et al., 2015). No entanto, há também descrições do aparecimento de casos da doença em pacientes sem nenhuma causa de imunocomprometimento (PAPPAS et al., 2001; ECEVIT et. al., 2006).

No Brasil, os primeiros relatos da Cryptococose ocorreram em 1941 e 1944, descritos por Carlos da Silva Lacaz e Floriano de Almeida (REIS-FILHO et al., 1985). Estima-se que o número de casos criptococose associada ao HIV se aproxime de 1 milhão de casos por ano.

A criptococose é uma micose cosmopolita, oportunista que vem assumindo um papel relevante em todo mundo. É causada por duas espécies: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. Existem diferenças entre as espécies, devido à ecologia, epidemiologia, biologia e associação com o hospedeiro. Porém os sintomas clínicos são muito semelhantes (DEL POETA, 2012). É mais comum em pacientes com HIV/AIDS

e transplantados, porém tem sido associada com muitos tipos de imunocomprometimento (HADDAD et al., 2015)

Cryptococcus neoformans é encontrado em fezes de pombos e excretas de aves. Já o *Cryptococcus gattii* é associado a espécie *Eucalyptus camaldulensis* nativo da Austrália, e atualmente tem sido associado a material em decomposição vegetal. (DEL POETA et al., 2012).

O ser humano pode ser um reservatório do fungo, abrigando leveduras por meses ou anos sem causar sintomas clínicos, o que caracteriza a criptococose-infecção. Já o desenvolvimento de sintomas e lesões caracterizam a criptococose-doença. Os esporos inalados pelo nariz viaja pelas vias aéreas do sistema respiratório chegando ao pulmão, se aloja nos brônquios onde se multiplica. Caso essa doença não seja controlada o fungo pode migrar para outras partes do corpo, ocorre disseminação para outros tecidos, principalmente para o sistema nervoso central sendo estes os quadros mais graves da doença (ABEGG et al, 2006; DEL POETA et al., 2012).

A infecção é menos frequente em pacientes imunocompetentes, e nos pacientes imunocomprometidos surge como infecção sub clínica localizada, e na maioria das vezes assintomática. Quando há uma grave imunossupressão, a infecção se espalha (ESPINEL, 2015).

MENINGITI CRIPTOCOCÓCCICA

A meningoencefalite criptocócica é a forma clínica mais comum e a mais importante da doença, apresentando alto índice de letalidade, se tratada tardiamente (FRANCO-PAREDES et al., 2015).

O cérebro serve como local de sobrevivência para o fungo devido a presença abundante em catecolaminas, tiamina, ácido glutâmico, glutamina, carboidratos e

glutamina, que podem ser usadas pelo fungo para síntese da melanina (LÓPEZ-HERRERA et al,2015)

Em todo mundo estima-se que 25% a 30% de indivíduos com AIDS têm como consequência a meningite criptococócica causando cerca de 45 A 70% da mortalidade nesta população (HARRIS, 2012).

FUNGO

Cryptococcus neoformans foi isolado e identificado pela primeira vez como patógeno humano, em 1894, em uma lesão de tíbia, é um basidiomiceto de forma esférica ou globosa, com diâmetro aproximado de 2-8µm apresentando cápsula mucopolissacarídica cujo tamanho pode variar de <5µm até 30µm. A cápsula polisacarídica apresenta três componentes principais glicuronoxilomana (GXM), a galactoxilomanana (GaIXM) e a manoprotéina (MP) (DEL POETA et al., 2012).

Cerca de 90% do polissacarídeo capsular é o GXM, e as diferenças nessa estrutura são a base para a separação dos isolados *C.neoformans* em 4 sorotipos A,B,C e D. (FRANÇA et al., 2008). Sorotipos A, D, e híbridos AD pertencem a *C. neoformans* e sorotipos B e C pertencem a *C. gattii* (ESPINEL et al., 2015).

O gênero *Cryptococcus* compreende um grupo com mais de 38 espécies. A reprodução assexuada ocorre por brotamento de células, são observadas também características como a presença de blastoconídios isolados ou múltiplos. Geralmente, *C. neoformans* e *C. gattii* são encontradas na forma assexuada, com blastoconídios e a forma sexuada aparece com a formação de basidiósporos (NOTARANGELO et al, 2009).

Acredita-se que o *C. neoformans* é um patógeno intracelular facultativo, (HARRI et al., 2012), e que o fungo sobrevive no meio intracelular dos macrófagos não

sendo destruído durante a fagocitose, assim o fungo desenvolve estratégias para sobreviver ao sistema imune (ESPINEL et al., 2015)

PATOGÉNESE

Os fatores de virulência do *C. neoformans* dizem respeito a sua capacidade de crescimento a 37°C, a produção de melanina, o tamanho da cápsula polissacarídica, e enzimas e moléculas de sinalização celular. Esses fatores é que definem a patogenicidade de *C. neoformans*, que lhe possibilitam êxito quando em vida parasitária (ESPINEL et al., 2015 & CHANG et al., 2008).

PATOGENIA

Cryptococcus spp estabelece infecção pulmonar quando esporos ou células são inaladas, do pulmão a levedura pode atingir a corrente sanguínea e migrar para o sistema nervoso central através de migração transcelular pelo endotélio microvascular da barreira sangue-cérebro, o cruzamento desta barreira é chamado mecanismo cavalo de Tróia, em que *Cryptococcus spp* atravessar o endotélio usando vias de migração paracelular (HARRIS et al., 2012; FRANCO-PAREDES et al., 2015)

Três hipóteses têm sido propostas para explicar neurotropismo fúngico. Primeiro, substratos neuronais nos gânglios basais podem promover o crescimento cryptococcal e sobrevivência. O sistema nervoso central, e em particular os espaços perivasculares, pode servir como um nicho para *Cryptococcus spp*. Em segundo lugar, parece haver receptores neuronais específicos que pode atrair este patógeno fúngico para o cérebro. Finalmente uma vez que os substratos que o *Cryptococcus spp* usa, a dopamina, os neurotransmissores adrenalina, estes ajudam na síntese de melanina, que é o componente da parede celular que aumenta a proteção contra o stress oxidativo e a fagocitose (BYRNES et al., 2011, FRANCO-PAREDES et al., 2015)

DIAGNÓSTICO

A pesquisa direta do fungo pode ser realizada em fluídos e tecidos corpóreos dos pacientes com suspeita de infecção fúngica. Várias técnicas podem ser empregadas para a pesquisas das estruturas fúngicas de *C. neoformans* e *C. gattii*. Preparações com tinta da China são utilizadas em amostras líquidas e fluídos. Já para os tecidos onde se realiza os estudos histopatológicos utiliza-se corantes como mucicarmin e prata (BARNETT et al., 2010)

A cultura é tradicionalmente o padrão ouro dos métodos de diagnósticos laboratorial para *C. neoformans* e *C. gattii*. A espécie *C.gattii* necessita de um período de 5 a 7 dias para desenvolver já *C. neoformans* a partir de 3 dia já pode ser confirmado como positivo. Porém só após 30 dias de incubação é que se deve descartar e ser definido como cultura negativa.

O cultivo de *C. neoformans* em laboratórios é simples, em meio Sabouround o fungo se desenvolve formando colônias lisas e mucóides. Partindo do isolado primário a diferenciação em laboratório é feita por meio de ágar canavanina-glicina-azul de bromo timol (CGB) além dos teste da urease (MALHEIROS et al 2014).

A produção de urease é uma prova bioquímica utilizada para identificação do gênero, ambos são capazes de hidrólizar a uréia, mas na presença do EDTA o *C.gattii* inibe a urease, já o *C.neoformans* não, assim se ocorrer a hidrolise de uréia o meio altera a cor e o resultado é positivo para *C. neoformans* (BARNETT, 2010)

Com os grandes avanços nas técnicas de diagnósticos moleculares a metodologia de reação em cadeia polimerase (PCR) multiplex aliada ao uso de um método rápido de extração do DNA são uma rápida identificação das espécies com maior especificidade (FRANCO-PAREDES et al., 2015).

EPIDEMIOLOGIA

A criptococose em sua forma disseminada é freqüentemente encontrada em pacientes com comprometimento do sistema imunológico. Possui distribuição mundial, onde o sorotipo A é o mais freqüente, seguido do sorotipo D, apresenta prevalência significativa na Europa Central. África Subsaariana tem a maior incidência de criptococose, América Latina é a terceira região global com maior incidência e em 2015 foram estimados cerca de 10 mil casos por ano de meningite criptocócica (RAJASINGHAM et al., 2015; FRANCO-PAREDES et al., 2015).

No Brasil a freqüência de Cryptococose vem aumentando como em todo mundo (HARRIS et al., 2012) ocorre em todas as regiões. É a primeira manifestação oportunista em aproximadamente 4% dos pacientes com AIDS, sendo responsável por 50 % dos casos de mortes devido a micoses sistêmicas neste grupo de indivíduos (LIZARAZO et al., 2014). Uma série de casos apontam para a elevada prevalência de *C. neoformans* como agente de criptococose relatado no Rio Grande do Sul (82,9%), São Paulo (95,7%), Rio de Janeiro (82,9%), Minas Gerais (93,82%), Pará (85,7%) e Goiás (96,7%) (CARATÃO et al., 2013; MOTTA et al. 2010).

Recentemente um estudo multicêntrico relatando 306 casos de criptococose em pacientes HIV negativos, apontou a criptococose como responsável por 3% a 8% das infecções fúngicas invasivas em receptores de transplante de órgãos, com mortalidade global de 42%, foi descrita também associação com malignidades, hematológicas ou não. E o uso crônico de corticóides ou de outros imunossupressores e, imunodepressão devido a doenças graves (FRANCO-PAREDES et al., 2015)

Estudos apontam que a criptococose ocorre com maior prevalência no sexo masculino , e é diretamente relacionada com a condição imune do hospedeiro, o grau de exposição ao fungo e sua patogenia (MOREIRA et al., 2006; SILVA et al., 2008).

TRATAMENTO

A opção de tratamento antifúngico específico para Criptococose no SNC segundo as guidelines actuais é a Anfotericina-B endovenosa, associado ou não, a 5-flucitosina (5-FC) oral fraccionada em quatro doses e administrado durante duas semanas seguidos de 400 mg/dia oral de fluconazol até completar 10 semanas. Porém a flucitosina não é disponível. O fármaco também pode ser administrado por via intratecal, estando reservado para pacientes em que a via endovenosa está contraindicada (SILVA et al., 2008; FRANCO-PAREDES, 2015).

Devido ao alto risco de recidiva da criptococose, o fluconazol deve ser mantido como profilaxia secundária. Considerado uma droga pouco tóxica, o fluconazol é o antifúngico de escolha para manutenção terapêutica de longos períodos.

JUSTIFICATIVA

Apesar do número relativamente pequeno de espécies envolvidas nas infecções causadas por fungos patogênicos e oportunistas, estas infecções tem aumentado ao longo das últimas décadas, porém a criptococose é uma doença rara em crianças em todo o mundo.

Em um ano, cerca de um milhão de novos casos de criptococose meníngea em pessoas com síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) são diagnosticados (Park et al. 2009). Estima-se que o número de mortes relacionadas com o *Cryptococcus* esteja em mais 650.000/ano, tornando mortes associadas ao HIV causada por criptococose mais frequentes do que as causados por tuberculose (DEL et al., POETA, 2012; ESPINEL et al., 2015).

Em contraste, a literatura mundial descreveu menos de mil casos de criptococose em crianças, incluindo aqueles que ocorrem em pacientes imunossuprimidos. A baixa frequência de criptococose em crianças não pode ser explicado pela falta de exposição; de fato, um estudo mostra que a maioria das crianças com mais de dois anos têm evidência sorológica de infecção por *C. neoformans* (LIZARAZO et al., 2014)

Nos últimos anos, o interesse em criptococose em crianças tem aumentado. No entanto, os dados epidemiológicos ainda são escassos, os fatores que determinam a sua relativa raridade na população infantil ainda são mal compreendidas e não há guias próprias de gestão (LIZARAZO et al., 2014). Assim, sem dúvida, são necessários novos estudos para ampliar e melhorar o entendimento da infecção fúngica em crianças afetadas pela X-HIGM e sua frequência.

Como a Criptococose não é uma doença de notificação compulsória no Brasil, uma estimativa real da sua incidência e prevalência têm sido limitada. É provável que a distribuição geográfica é muito mais larga do que a atualmente documentada.

OBJETIVOS

GERAL

Apresentamos pela primeira vez um caso fatal de meningite criptocócica, causada por *Cryptococcus neoformans*, em criança com cinco anos de idade, portadora da síndrome XHIGM, cujo desfecho foi o óbito, atribuído à criptococose.

ESPECÍFICOS

Avaliar os aspectos bioquímicos, morfológicos e fenotípicos do fungo;

Avaliar sua disseminação, patogenia e virulência;

A susceptibilidade aos antifúngicos e a reação frente ao tratamento empregado.

REFERÊNCIAS

- ABEGG, M.A.; CELLA, F.L.; FAGANELLO, J.; VALENTE, P.; SCHARANK, A.; *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* isolated from the excreta of psittaciformes in a southern Brazilian zoological garden. **Mycopathologia**, v. 161, p. 83-91, 2006.
- AQUINO, V. R.; LUNARDI, L.W.; GOLDANI, L.Z.; BARTH, A.L. Prevalence, susceptibility profile for fluconazole and risk factors for candidemia in a tertiary care hospital in southern Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 9, p. 411-8, 2005.
- BARNETT, J.A. A history of research on yeasts 14: medical yeasts part 2, *Cryptococcus neoformans*. **Yeast**, v. 27, p.875–904, 2010.
- BYRNES, E.J. BARTLETT, K.H; PERFECT, J.R.; HEITMAN, J. *Cryptococcus gattii*: an emerging fungal pathogen infecting humans and animals. **Microbes Infect**, v.13, p.895–907, 2011
- CARATÃO, N. CORTESÃO, C.S. REIS, P.H. LAZZARA, D. A novel activation-induced cytidine deaminase (AID) mutation in Brazilian patients with hyper-IgM type 2 syndrome. **Clin Immunology**.v.148, p. 279-86, 2013.
- CHANG, M.R. CORREIA, F.P.; COSTA, L.C.; XAVIER, P.C.; PALHARES, D.B.; TAIRA, D.L.; PANIAGO, A.M.; PONTES, E.R.; MACHADO, V.E.; *Candida* bloodstream infection: data from a teaching hospital in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 50, p. 265-8, 2008.
- DEL POETA. M.; CASADEVALLI. A.; Ten Challenges on *Cryptococcus* and Cryptococcosis, **Mycopathologia** (2012) 173:303–310. 2012.
- ECEVIT, I. CLANCY, C.J.; SCHMALFUSS, I.M.; NGUYEN, M.H. The Poor Prognosis of Central Nervous System Cryptococcosis among Nonimmunosuppressed Patients: a Call for Better Disease Recognition and Evaluation of Adjuncts to Antifungal Therapy. **Clin Infect Dis**, v.42, p.1443–1447, 2006.
- ESPINEL-INGROFF, A. ALLER, A.I. CANTON, E. *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii* species complex: an international study of wild-type susceptibility endpoint distributions. **Lancet Infect Dis**. v. 26, p. 265-266, 2015.
- FRANÇA, J.C.B; RIBEIRO,C.E.L; QUEIROZ-TELLES, F. Candidemia em um hospital terciário brasileiro: incidência, frequência das diferentes espécies, fatores de risco e suscetibilidade aos antifúngicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 23-8, 2008.
- FRANCO-PAREDES, C. WOMACK, T.; BOHLMeyer, T.; SELLERS, B.; HAYS, A.; PATEL, K.; LIZARAZO, J.; LOCKHART, S.R.; SIDDIQUI, W. Management of *Cryptococcus gattii* meningoencephalitis. **Lancet Infect Dis**, v. 15, p.348–355, 2015.

- GEHA, R. S. NOTARANGELO, L. D. CASANOVA, J. L. HAMMASTROM, L. OCHS, H.D. Primary immunodeficiency diseases: P An update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee. **J Allergy Clin Immunol**.v.12 P. 776-794, 2007.
- HADDAD, N. CAVALLARO, M.C. LOPES, M.P. et al. Pulmonary cryptococcoma: a rare and challenging diagnosis in immunocompetent patients. **Autopsy Case Rep**. v.5, p. 35-40, 2015
- HARRIS, J.; LOCKHART, S.; CHILLER, T. *Cryptococcus gattii*: where do we go from here? **Med Mycologia**, v.50, p.113–29, 2012.
- KEBEDET, T. REDA, N. Pulmonary cryptococcoma mimicking pulmonary malignancy in an immunocompetent adult: a case report. **Ethiop Med J**. v. 50, p.275-278, 2012.
- LIZARAZO, J. ESCANDÓN, P.; AGUDELO, C.; CASTANEDA, E. Cryptococcosis in Colombian children and literature review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 109, p. 797-804, 2014.
- LÓPEZ-HERRERA, G. MARAVILHAS, M. J.L. VARGAZ,H. A. BERRON, R. L. RAMÍREZ, S. E. YAMAZAKI, N. M.A. ESPINOSA,R. F.J. SANTOS, A. L. A novel CD40LG deletion causes the hyper-IgM syndrome with normal CD40L expression in 6-month-old child. **Immunologic Research**. v. 62, P. 89-94, 2015.
- MALHEIRO, L. LAZZARA, D. XERINDA, PINHEIRO, M.D. SARMENTO A. S. Cryptococcal meningoencephalitis in a patient with hyper immunoglobulin M (IgM) syndrome: a case report **BMC Res Notes**. v.7, P. 566, 2014.
- MARQUES, O.C. SCHIMKE, .LF. PEREIRA, P.V.S. HACKETT, M.J. ERRANTE, P.R. WEBER, C.W. FERREIRA, J.F. KUNTEZE, G. ROSÁRIO,F.N.A. OCHS, H.D. Expanding the Clinical and Genetic Spectrum of Human CD40L Deficiency: The Occurrence of Paracoccidioidomycosis and Other Unusual Infections in Brazilian Patients-**Journal of Clinical Immunol**.v. 32, P. 212-220, 2012.
- MARQUEZ, N. M; QUEIROZ-TELLES, T. A.M; RESTREPO, A; COLOMBO, A.L. Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. **Clin Infect Dis**, v. 51, p.561–570, 2010.
- 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, p. 255-258, 2006.
- MOTTA, A.L. ALMEIDA, G.M.; ALMEIIDA, J.N.; BURATTINI, M.N.; ROSSI, F. Candidemia epidemiology and susceptibility profile in the largest Brazilian teaching hospital complex. **Brazilian Journal of Infectious Disease**, v.14, p.441-448, 2010.
- NANDAN, D. NAG, V.K. TRIVEDI, M . SINGH,S. X-linked Hyper-IgM Syndrome with Bronchiectasis. **Journal of Labarotory Physicians**. v.6, p. 114–116, 2014

NOTARANGELO, L. D. FISCHER, A. GEHA, R. S.REDA, N. Primary immunodeficiencies International Union of Immunological Societies Expert Committee on Primary Immunodeficiencies. **J Allergy Clin Immunol.** v.124 p.1161-1178, 2009.

PAPPAS, P.G. PERFECT, J.R.; CLOUD, G.A.; LARSEN, R.A.; PANKEY, G.A.; LANCASTER, D.J.; HENDERSON, H; KAUFFMAN, C.A.; HAAS, D.W.; SACCENTE, M.; HAMILL, R.J.; HOLLAWAY, M.S.; WARREN, R.M.; DISMUKES, W.E. Cryptococcosis in Human Immunodeficiency Virus-negative Patients in the Era of Effective Azole Therapy. **Clin Infect Dis**, v.33, p.690-699, 2001.

RAJASINGHAM, R. MUSUBIRE, A. WILLIAMS, D. A. THIENEMANN,F. BOHJANEN, P.R. MUZZORA, C. MEINTIJES, G. MEYA, D.B. BOULWARE, D.R.Serebrospinal Fluid Culture Positivity and Clinical Outcomes After Amphotericin-Based Induction Therapy for Cryptococcal Meningitis. **Open Forum Infect Dis.** v. 28, p. 57, 2015.

REIS-FILHO, J.B. NEVES, A.C.; ZYMBERG, S.T.; OLIVEIRA, R. M. O líquido cefalorraquidiano inicial nas meningoencefalites por *Cryptococcus neoformans*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 27, p. 173-178, 1985.

SILVA, P. R. RABELO, R.A.; TERRA, A.P.; TEIXEIRA, D.N. Suscetibilidade a antifúngicos de variedades de *Cryptococcus neoformans* isoladas de pacientes em hospital universitário. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 158-162, 2008.

CAPÍTULO II

Artigo 1

Criptococose disseminada fatal em criança com síndrome Hyper-IgM.

S. M. L. Suzuki¹, M. Negri ², P. Bonfim², Caparroz-Assef S.M.³, T. Salci ², T. I. E. Svidzinski^{1,2}

¹Section of Medical Mycology, Graduate Program in Health Sciences, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brazil.

²Section of Medical Mycology, Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brazil.

* Corresponding author: Terezinha Inez EstivaletSvidzinski

Division of Medical Mycology, Teaching and Research Laboratory in Clinical Analysis
– Department of Clinical Analysis of State University of Maringá – Paraná – Brazil

Av. Colombo, 5790

CEP: 87020-900

Maringá, PR., Brazil

Phone: +5544 3011-4809

Fax: +5544 3011-4860

E-mail: tiesvidzinski@uem.br or terezinha@gmail.com

Criptococose disseminada fatal em criança com síndrome Hyper-IgM.

RESUMO

Relato de caso incomum de criança portadora da síndrome XHIGM, diagnosticada com *Cryptococcus neoformans*. Avaliamos aspectos microbiológicos, patogênicos e resposta terapêutica. Teste de susceptibilidade aos antifúngicos indicou sensibilidade às concentrações inibitórias mínimas (0,5 mg/L) para Anfotericina B, (4.0 mg/L) para fluconazol e (0,12 mg/L) para Voriconazol. Avaliação de patogenicidade mostrou disseminação do fungo para baço, pulmão e cérebro, causando alterações macroscópicas de textura e tamanho. A média do tamanho da cápsula do isolado clínico corresponde com a média da cápsula de *C. neoformans* ATCC 40283. A avaliação de patogenicidade feita por infecção experimental em camundongos Balb/C mostrou disseminação do fungo que atingiu o baço, pulmão e cérebro, causando importantes alterações macroscópicas de textura e tamanho dos mesmos. O tratamento com anfotericina B reduziu a carga fúngica em baço e pulmões, mas não no cérebro.

Palavras-chave: Síndrome de hiper-IgM, Cryptococcus, Criptococose

Introdução

Criptococose é uma das infecções oportunistas invasivas, de origem fúngicas, mais comuns em seres humanos. Essa infecção, raramente acomete indivíduos imunocompetentes¹ ocorre em todo o mundo, com prevalências variáveis. Destaque para África sub-saariana com mais de 1 milhão de casos por ano e, cerca de 650 000 mortes², afetando predominantemente pacientes com HIV / AIDS³.

Recentemente um estudo multicêntrico relatando 306 casos de criptococose em pacientes HIV negativos, apontou a criptococose como responsável por 3% a 8% das infecções fúngicas invasivas em receptores de transplante de órgãos, com mortalidade global de 42%. Foi descrita também associação com malignidades, hematológicas ou

não⁴. E o uso crônico de corticóides ou de outros imunossupressores e, imunodepressão devido a doenças graves⁵.

Entre as causas de imunocomprometimentos, *X-linked hyper-IgM* síndrome (XHIGM) ligada ao cromossomo X é um distúrbio de deficiência imunitária primária, rara, causada por mutações no gene que codifica a produção de CD40L. É caracterizada por níveis normais ou elevados de IgM e níveis normais ou diminuídos de IgG e IgA^{6, 7}. Pacientes com síndrome de XHIGM apresentam susceptibilidade variável aos patógenos fúngicos com relatos de histoplasmose e candidíase invasiva⁸. Especificamente relacionado à criptococose, até onde sabemos há quatro registros na literatura médica associando criptococose com XHIGM^{9, 10, 11, 12} e, em nenhum deles foi fatal.

Neste estudo nós apresentamos pela primeira vez um caso fatal de meningite criptocócica, causada por *Cryptococcus neoformans*, em criança com cinco anos de idade, portadora da síndrome XHIGM, cujo desfecho foi o óbito, atribuído à criptococose.

Caso clínico

História prévia

Menino de cinco de idade, mas com longo histórico de internações por várias infecções de vias aéreas superiores e infecções oportunistas de repetições desde o nascimento. Aos três anos foi confirmado diagnóstico de XHIGM. Foi acompanhado por consultas regulares em um hospital Universitário público em serviço de pneumologia e hematologia, fazendo periodicamente infusão de imunoglobulina humana.

Em 20/10/12, foi internado devido a vômitos 2 a 3 vezes ao dia há várias semanas, a criança apresentava-se pálida, prostrada, consciente, orientada, emagrecida sem se alimentar há dois dias, com 29 quilos, 98cm de altura, taquicárdico, eupnéico, afebril.

Orofaringe hiperemiada, tiróide não palpável. Ausculta cardíaca 134 batimentos por minutos sem sopros e rítmica. Ausculta pulmonar com presença de roncos e sibilos bilaterais e subcrepitação de bolhas médias bilaterais. Abdômen sem alterações. Sem rigidez de nuca, exame laboratorial de líquido revelou presença abundante de leveduras capsuladas sugestivas de *Cryptococcus* spp. Iniciou-se o tratamento com anfotericina B 50 mg diárias por 26 dias.

Mais tarde apresentou enxaqueca em região frontal parietal latejante, com vômitos, ficou confuso e apresentou estrabismo convergente a esquerda. Tomografia de crânio revelou diagnóstico de migrânea. Acuidade visual adequada, apenas com diplopia. Em 22/10/12 apresentou aumento da pressão arterial, confirmada meningite criptocócica já apresentava rigidez de nuca, midríase bilateral, com piora clínica e hemodinamicamente instável. A ressonância revelou sinais de inflamação leptoma e acúmulo de células em mastóide.

Em 30/10/12 realizou ultrasonografia que revelou hepatomegalia homogênea. Confirmada meningite por *Cryptococcus neoformans*. Após oito dias referia otalgia e no exame de otoscopia estava alterada e com otite. Em 09/11/12 apresentou cefaléia forte, vômito e crise convulsiva, foi transferido para a Unidade de Tratamentos Intensivos. No dia, hemoculturas foram positivas para *C. neoformans*. Em 11/11/12, a tomografia crânio apresentou sinais sugestivos de apagamento difuso dos sulcos corticais, fissuras cerebrais e cisternas da base. A criança estava hipotérmica, com pupilas fixas sem fotorreação e descorado. A equipe médica decidiu administrar anfotericina B intratecal. Foi iniciada avaliação neurológica. Em 13/11/12 apresentou-se hipotérmico foi utilizada manta térmica para melhorar o aquecimento corporal, estava midriático, edemaciado e não respondia aos estímulo dolorosos. Foi iniciado protocolo de morte encefálica, e o óbito aconteceu no dia seguinte.

Resultados

Características do isolado fúngico

Avaliação da punção lombar coletada no dia da internação, revelou fungos com as características descritas na figura 1.

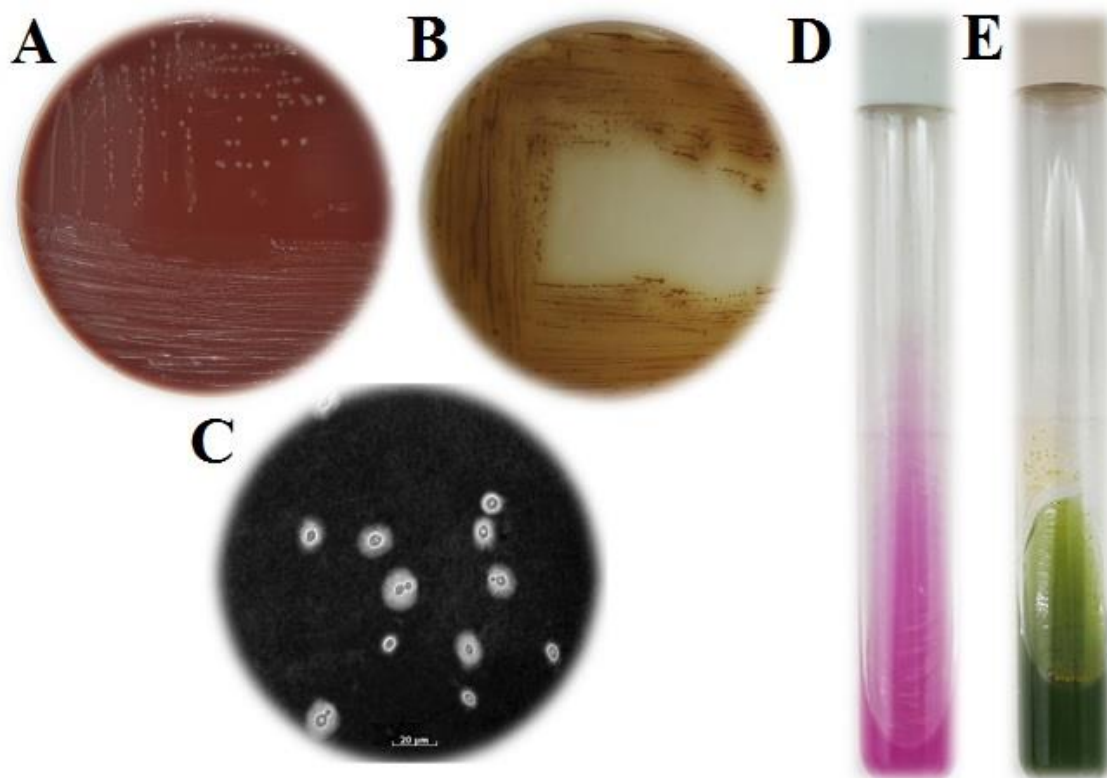


Figura 1: Quadro de identificação *Cryptococcus neoformans*. **A) Ágar Sangue:** meio padrão enriquecido para semeadura inicial do líquor. Cultivo puro de *C. neoformans*, colônias mucoides brilhante. **B) Ágar Níger:** Colônias marrom-escuras de *C. neoformans*, fenoloxidase-positivas, com produção de pigmento melanínico. **C) Cápsula.** *C. neoformans* em líquor, visualização de cápsula em tinta nanquim. Imagens obtidas em microscópio ótico com aumento de 400x. **D) Ágar uréia:** Cor rósea indica a conversão de uréia para amônia, devido a presença da enzima urease em *C. neoformans*. **E) Ágar Canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB).** *C. neoformans* são inibidos pela L-canavanina, portanto, não alteram o pH do meio de cultura, mantendo a cor original do meio.

Teste de susceptibilidade aos antifúngicos para *C. neoformans* isolado das amostras de líquido, realizados de acordo com o documento do CLSI M27-A3 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) indicou as seguintes concentrações inibitórias mínimas: (0,5 mg/L) para anfotericina B, (4.0 mg/L) para fluconazol e (0,12 mg/L) para voriconazol.

O principal fator de virulência foi avaliado *in vitro* por meio da avaliação do tamanho da cápsula, em comparação com a cepa padrão *C. neoformans* ATCC 40283. A produção de cápsula foi avaliada após sua indução em caldo Sabouraud diluído (1:10) em tampão ácido morfolino propanosulfônico (MOPS) 50 mM, pH 7,3¹³. O tamanho médio da cápsula foi avaliado em 100 células de cada isolado, através da visualização em microscópio ótico Optnon, usando a técnica da tinta da China. As imagens foram obtidas com aumento de 400x, e as cápsulas foram mensuradas por meio do software AxioVision LE.

O tamanho da cápsula foi muito semelhante entre o isolado clínico e a cepa padrão ATCC 40283, cujos tamanhos médios foram 0,8969 μM e 0,9149 μM , respectivamente, ($p > 0,05$) avaliado pelo software Graphpad prism 6 com o teste *t* de Student.

A avaliação de patogenicidade foi feita por meio de infecção experimental em camundongos Balb C, como segue. A partir da cultura inicial e reativação do *C. neoformans* em Sabouraud Dextrose Agar (SDA), por 24 horas, foi preparado um inóculo 1×10^6 células por mililitro de solução salina tamponada, pH 7,2 (PBS); 100 μL desta suspensão foram injetados em veia caudal de 15 camundongos, machos com 60 dias. Após 24 hs da inoculação, metade dos animais foram tratados com anfotericina B de 12 em 12 horas e a outra metade recebeu 100 μL de PBS, por 5 dias, por meio de injeções via intraperitoneal. Para a avaliação da fungemia, os animais foram

sacrificados e os órgãos (cérebro, pulmões e baço), foram removidos. Para a determinação da carga fúngica, os órgãos foram pesados, macerados, homogenizados e diluídos, 1:10, 1:100 em séries e plaqueados em SDA. As placas foram incubadas a 37° C, as colônias contadas e, a carga fúngica foi expressa pelo número de unidades formadoras de colônias por grama de órgão (UFC/g).

Os resultados destes experimentos são apresentados na figura 2. Comprovamos a capacidade de disseminação do fungo que atingiu os três órgãos avaliados, causando importantes alterações macroscópicas de textura e tamanho dos mesmos (Fig 2B). Em relação à resposta ao tratamento a Fig 2A mostra que anfotericina B produziu redução da carga fúngica estatisticamente significativa em baço e pulmões, mas não no cérebro.

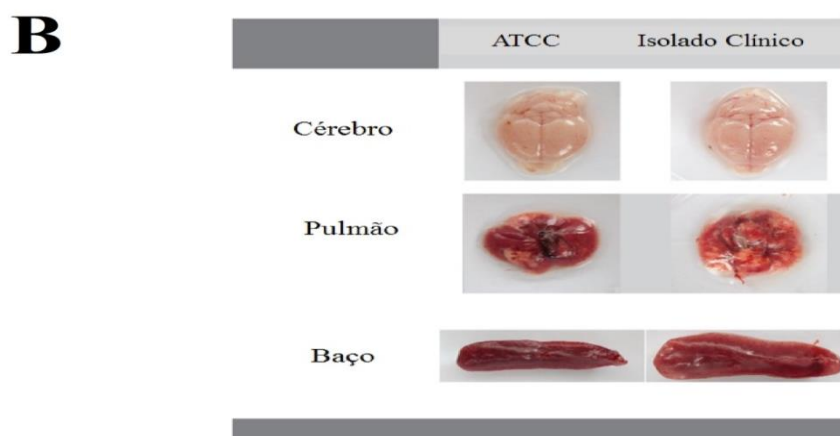
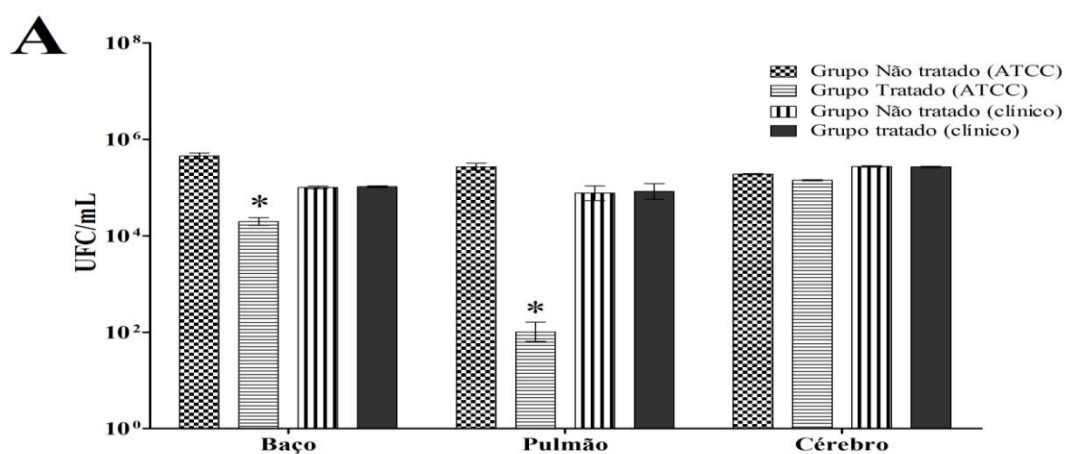


Figura 2. Ensaio de Criptococose experimental. A) Unidades formadoras de colônias recuperadas após infecção *in vivo* em animais Balbc com isolado clínico de *Cryptococcus neoformans* e cepa padrão de *C. neoformans* ATCC 40283. Grupo não tratado: animais infectados com cepa padrão ATCC ou isolado clínico que não receberam tratamento antifúngico. Grupo tratado: animais infectados com a cepa padrão ATCC ou isolado clínico e tratados com anfotericina B, durante 5 dias. * $p < 0.05$, diferença estatística quando comparado com o grupo controle (avaliado pelo software Graphpad prism 6 com o teste *t* de Student). B) Características macroscópicas do cérebro, pulmão e baço, após infecção de camundongos Balb/c com o isolado clínico de *Cryptococcus neoformans* e *C. neoformans* ATCC 40283.

Discussão

Criptococose é uma micose oportunista, comum no mundo todo, cuja incidência tem aumentado nos últimos anos. É mais comum em pacientes com HIV/AIDS e transplantados, porém tem sido associada com muitos tipos de imunocomprometimento^{1,2,3,4,5}. Em relação á XHIGM, nós encontramos apenas quatro casos relatados desde 1994, dos quais, apenas um foi avaliado mais detalhadamente sob os aspectos do hospedeiro.¹⁴ Aqui nós apresentamos um caso considerado incomum, que acometeu paciente de cinco anos de idade portador da síndrome XHIGM, que vivia normalmente até que os sinais de meningite apareceram, teve um diagnóstico definitivo tardio e óbito como desfecho. Devido a pouca experiência em situações como essa, entendemos merecer um estudo mais aprofundado, abordando características sobre o fungo. Alguns pontos são considerados críticos na abordagem clínica e laboratorial deste caso. Os pontos que nortearam o presente estudo foram: a suspeita de criptococose em pacientes com esse perfil; a escolha do tratamento mais adequado e, se a infecção deve ser mais

atribuída à debilidade do hospedeiro, à virulência do agente ou a resistência aos antifúngicos, estes foram os pontos que nortearam o presente estudo.

Imunodeficiências adquiridas ou congênitas podem estar associadas com o aumento da susceptibilidade a infecções fúngicas invasivas (IFI), dependendo do tipo de déficit imunológico. IFI são mais frequentes em pacientes com defeitos da imunidade celular, especialmente envolvendo células fagocíticas e, raramente são observados naqueles com déficits humorais ou de complemento^{12,15,16}. Nesse caso, durante o internamento foi registrado leucocitose (número de leucócitos variando entre 10.700 a 44.550 leucócitos/mm³) com neutrófilos oscilando de 64 a 70%. Além disso, a história prévia desta criança mostra que ela manifestava alguns sinais de meningite a algumas semanas antes da internação a saber: estrabismo convergente a esquerda, céfaleia parietal latejante e febre, porém como estes sintomas não são específicos e, a imunodeficiência da criança era pouco conhecida nos serviços de saúde que a acompanhavam, o que não permitiu a suspeita de criptococose retardando, o diagnóstico definitivo e tratamento adequado.

A XHIGM, descrita por Burtin (1961), é uma síndrome que envolve vários tipos de deficiências no sistema imune, dentre elas a deficiência de CD40L foi o primeiro defeito fenotípico descoberto e, é o mais frequente entre os indivíduos afetados^{17, 18}. XHIGM é uma imunodeficiência combinada de linfócitos T e B, rara, com frequência estimada em 1/1000.000 nascidos¹². Entre as características clínicas e laboratoriais manifestadas por indivíduos deficientes de CD40L, destacam-se neutropenia, neoplasias, enfermidades hepáticas e respiratórias recorrentes além de infecções do sistema nervoso central (SNC), responsáveis pela alta morbidade e mortalidade destes pacientes^{12, 16}. O paciente desenvolveu hepatoesplenomegalia e meningite, mas os demais indicativos não foram detectados em nenhuma das fases da vida dessa criança.

A interação CD40-CD40L é essencial para a maturação de células apresentadoras de antígeno (APC) e mudança do isotipo produzido pelas células B, para produzir IgG, IgA e IgE. A maturação da APC leva ao aumento da capacidade de apresentação de antígenos e atividade fagocítica e produção de interleucinas que estimula ainda mais a diferenciação de T helper 1¹².

Células T deficientes em CD40L, não são capazes de ativar o receptor CD40 em células B, resultando em diminuição da recombinação e mudança na classe de imunoglobulina (CSR) levando a baixos níveis de IgG, IgA e IgE e de níveis normais a elevados de IgM^{15, 17}. Também há comprometimento na geração tanto as células B de memória e de macrófagos, assim como das respostas de células T a agentes patogênicos intracelulares TH1. Clinicamente, a deficiência do CD40L é caracterizada por defeitos na imunidade celular e humoral, resultando em uma susceptibilidade a infecções graves por micro-organismos oportunistas como é o caso de *Cryptococcus*.

Pietrella et al (2004) desenvolveram um estudo experimental em camundongos deficientes em CD40 / CD40L, com o objetivo de examinar o curso da infecção por *C. neoformans*, isolado de um paciente com XHIGM. Os autores comprovaram que a ausência de CD40L está relacionada com redução da atividade antimicrobiana de macrófagos; bem como com a redução da magnitude da resposta de células T e B; e consequente com o aumento de crescimento do fungo no cérebro^{14, 19}. Estes resultados sugerem que a falta da interação de CD40 / CD40L é prejudicial para o desenvolvimento de uma resposta imune eficiente contra *C. neoformans*. Quando a criança teve o diagnóstico de XHIGM, apresentava neutropênia, mas ao receber tratamento com imunoglobulina humana mensal, se recuperou, e os níveis séricos no hemograma melhoram, dando idéia de que sua resposta imune era adequada e, infelizmente em nenhum momento foi realizada uma avaliação das imunoglobulinas.

O tamanho da cápsula é um parâmetro considerado chave na relação fungo hospedeiro já que recentemente tem sido comprovado que cápsulas avantajadas conferem resistência de *Cryptococcus* à fagocitose,^{20, 21} primeira linha de defesa na resposta imune do hospedeiro.

Decidimos avaliar seu comportamento quando desafiado em hospedeiro imunocompetente, a avaliação da infecção experimental em camundongos mostra entretanto que o fungo foi capaz de escapar à resposta do animal, disseminando a todos os órgãos avaliados, os quais são considerados alvos dessa infecção. Além disso, a Fig 2A sugere se tratar, de fato, de um isolado resistente ao tratamento *in vivo* com anfotericina B, pois não houve redução da carga fúngica no cérebro. Entretanto não é possível afirmar com segurança que esse tenha ocorrido na criança considerando as peculiaridades do tratamento com anfotericina B em humanos e no que é possível reproduzir em animais. Importante destacar ainda que os dados *in vitro* em relação à resposta aos antifúngicos sugere que se tratava de um isolado fúngico sensível aos antifúngicos avaliados, incluindo anfotericina B, considerada o melhor antifúngico tratamento para tratamento da criptococose .

Relatamos aqui um caso fatal de criptococose em criança portadora de XHIGM, mas que mostrava níveis sanguíneos normais com indicativos de condições adequadas de imunocompetência. Os dados clínicos, laboratoriais e experimentais tomados em conjunto, nos permitem concluir que o desfecho não pode ser atribuído exclusivamente à debilidade do hospedeiro, nem à virulência do agente ou a resistência deste aos antifúngicos, mas provavelmente à somatória de todos esses fatores. Além disso e, sobretudo entendemos a importância de divulgar informações como essas a fim de aprimorar a abordagem da meningite criptocócica em pacientes imunocompetentes, e/ou imunodeficientes não HIV ou transplantados.

Referências

1. Haddad N, Cavallaro MC, Lopes MP, et al. Pulmonary cryptococcoma: a rare and challenging diagnosis in immunocompetent patients. *Autopsy Case Rep.* 2015; 5:35-40.
2. Centers for Disease Control and Prevention, CDC Disponível em: <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/cryptococcosis-neoformans/statistic.html> Acessado Dezembro 15, 2015.
3. Vidal JE, Boulware DR. 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*, 2015; 57: 38-45.
4. Kothiwala SK, Prajapat M, Kuldeep MC, et al. Cryptococcal panniculitis in a renal transplant recipient: case report and review of literature. *J Dermatol Case Rep.* 2015;v. 30; n.9(3): p.76–80.
5. KebedeT, Reda N. Pulmonary cryptococcoma mimicking pulmonary malignancy in an immunocompetent adult: a case report. *Ethiop Med J.* 2012; 50:275-8.
6. Notarangelo L D, Fischer A, Geha R S, et al. Primary immunodeficiencies International Union of Immunological Societies Expert Committee on Primary Immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 124: 1161-78.
7. Caratão N, Cortesão CS, Reis PH, et al. A novel activation-induced cytidine deaminase (AID) mutation in Brazilian patients with hyper-IgM type 2 syndrome. *Clin Immunology.* 2013; 148: 279-86.
8. Antachopoulos C. Invasive fungal infections in congenital immunodeficiencies. *Clin Microbiol Infect.* 2010; 16: 1335-42.
9. Tabone MD, Leverger G, Landman J, et al. Disseminated lymphonodular cryptococcosis in a child with X-linked hyper-IgM immunodeficiency. *Pediatric Infect Dis J.* 1994; 13: 77-9.
10. Iseki M, Anzo M, Yamashita N, et al. Hyper-IgM immunodeficiency with disseminated cryptococcosis *Acta Paediatr.* 1994; 83: 780-782.
11. Jo EK, Kim HS, Lee MY, et al. X-linked hyper-IgM syndrome associated with *Cryptosporidium parvum* and *Cryptococcus neoformans* infections: the first case with molecular diagnosis in Korea. *J Korean Med Sci.* 2002; 17: 116-20.
12. Malheiro L, Lazzara D, Xerinda S, et al. Cryptococcal meningoencephalitis in a patient with hyper immunoglobulin M (IgM) syndrome: a case report *BMC Res Notes.* 2014; 7: 566.
13. Zaragoza O, Casadevall A. Experimental modulation of capsule size in *Cryptococcus neoformans*. *Bio Proced Online.*2004; 3 (6): 10-15.
14. Pietrella D, Lupo P, Perito S, et al. Disruption of CD40/CD40L interaction influences the course of *Cryptococcus neoformans* infection. *FEMS Immunoly Medical Microbioly.* 2004; 40: 63-70.

15. López-Herrera G, Maravillas-Monteiro JL, Vargas-Hernández A, et al. A novel CD40LG deletion causes the hyper-IgM syndrome with normal CD40L expression in 6-month-old child. *Immunologic Research*. 2015; 62: 89-94.
16. Marques OC, Schimke LF, Pereira PVS, et al. Expanding the Clinical and Genetic Spectrum of Human CD40L Deficiency: The Occurrence of Paracoccidioidomycosis and Other Unusual Infections in Brazilian Patients-*Journal of Clinical Immunol*. 2012;32: 212-20.
17. Nandan D, Nag VK.; Trivedi N, et al. X-linked Hyper-IgM Syndrome with Bronchiectasis. *Journal of Laboratory Physicians*. 2014; 6: 114–116.
18. Geha R S, Notarangelo L D, Casanova J L, et al. Primary immunodeficiency diseases: P An update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 12: 776-94.
19. Nath R, Laskar B, Ahmed J, et al. Cryptococcus neoformans var. grubii Infection in HIV-Seronegative Patients from Northeast India: Report of Two Cases with Review of Literature. *Mycopathologia*. 2015.
20. Boulware DR, Von Hohenberg M, Rolfes MA, et al. Human Immune Response Varies by the Degree of Relative Cryptococcal Antigen Shedding. *Open Forum Infect Dis*. 2015; 3: 194.
21. Bojarczuk A, Miller KA, Hotham R et al. Cryptococcus neoformans Intracellular Proliferation and Capsule Size Determines Early Macrophage Control of Infection. *Sci Rep*. 2016; 18: 2-15.

CAPÍTULO III

CONCLUSÕES

Neste estudo nós apresentamos pela primeira vez um caso fatal de meningite criptocócica, causada por *Cryptococcus neoformans*, em criança com cinco anos de idade, portadora da síndrome XHIGM porém com indicativos de condições adequadas de imunocompetência, cujo desfecho foi o óbito, atribuído à criptococose.

Os dados clínicos, laboratoriais e experimentais tomados em conjunto, nos permitem concluir que o desfecho não pode ser atribuído exclusivamente à debilidade do hospedeiro, nem à virulência do agente ou a resistência deste aos antifúngicos, mas provavelmente à somatória de todos esses fatores. Além disso e, sobretudo entendemos a importância de divulgar informações como essas a fim de aprimorar a abordagem da meningite criptocócica em pacientes imunocompetentes e/ou imunodeficientes não HIV ou transplantados.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Sugerimos novos estudos que possam permitir ampliação mais profunda do fungo, do hospedeiro, bem como das infecções fúngicas oportunistas. Além de estudos para que possamos também avançar em novas opções terapêuticas.

Ajudar na difusão da importância da criação de estratégias e protocolos que contemple melhor monitorização dos paciente que possuem deficiência imunitária para doenças oportunistas principalmente infecções fúngicas, nos serviços de saúde.

Promover ações de educação aos profissionais de saúde, alunos dos cursos ligados a saúde, bem como aos gestores destes serviços, a fim de divulgar a importância do monitoramento das infecções fúngicas e, do atendimento adequados a pacientes por elas acometidos.

Promover ações de capacitação e educação contínuas nos serviços de saúde da região, em parcerias com órgãos governamentais e institutos de pesquisas, para atualização dos temas aqui abordados.