

**FACULDADE PATOS DE MINAS
CURSO DE BIOMEDICINA**

ALESSANDRA DE DEUS BOTELHO WATANABE

**LÍQUOR CEFALORRAQUIDIANO: aspectos clínico-
laboratoriais da criptococose**

**PATOS DE MINAS
2016**

ALESSANDRA DE DEUS BOTELHO WATANABE

LÍQUOR CEFALORRAQUIDIANO: aspectos clínico-laboratoriais da criptococose

Artigo apresentado à Faculdade Patos de Minas como requisito parcial para a conclusão do Curso de Biomedicina

Orientador: Prof.º Esp. Bruno Tolentino Caixeta

**PATOS DE MINAS
2016**

ALESSANDRA DE DEUS BOTELHO WATANABE

LÍQUOR CEFALORRAQUIDIANO: aspectos clínicos-
laboratoriais da criptococose

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado em 03 de novembro de 2016, pela
comissão examinadora constituída pelos professores:

Orientador: _____
Prof.º. Esp. Bruno Tolentino Caixeta
Faculdade Patos de Minas

Examinador: _____
Prof.º. Esp. Geraldo da Silva Xavier Neto
Faculdade Patos de Minas

Examinador: _____
Guilherme Santos Romão
Biomédico
Faculdade Patos de Minas

LÍQUOR CEFALORRAQUIDIANO: aspectos clínico-laboratoriais da criptococose

Alessandra de Deus Botelho Watanabe*

Bruno Tolentino Caixeta**

RESUMO

A criptococose é uma doença infecciosa causada pelo fungo *Cryptococcus neoformans*, e em indivíduos com baixa imunidade, pode comprometer o sistema nervoso central levando a complicações e até ao óbito. O exame do Líquor cefalorraquidiano (LCR) constitui um método eficaz para o seu diagnóstico. Este estudo aborda as características clínico-laboratoriais da criptococose relacionados com o LCR, descrevendo os aspectos que permitem o diagnóstico da doença. A presente pesquisa teve como objetivo desenvolver um estudo bibliográfico sobre o LCR, a criptococose e os métodos de diagnóstico da doença utilizando o LCR, comprovando a importância dos mesmos. Este estudo seguiu a metodologia de pesquisa exploratória a partir de artigos científicos, dissertações e livros. A microscopia do LCR preparado com tinta da china e cultura em meio de Sabouraud são eficazes no diagnóstico quando o criptococo se encontra no Sistema nervoso central, tornando possível diferenciar a criptococose de outras enfermidades de quadro clínico similar. Devido ao baixo sucesso do tratamento da criptococose em estágio avançado, é de grande importância o diagnóstico precoce da doença por meio do LCR, que irá contribuir para diminuir a taxa de mortalidade dos pacientes.

Palavras-chave: Criptococose. Fungos. Líquor cefalorraquidiano. Doença neurológica

*Aluna do Curso de Biomedicina da Faculdade Patos de Minas (FPM) formanda no ano de 2016
alebw77@gmail.com

**Professor de Hematologia e Hemoterapia no curso de Biomedicina da Faculdade Patos de Minas. Especialista em Hematologia e Hemoterapia pela Academia de Ciências e Hematologia de São José do Rio Preto - SP brcaixeta@yahoo.com.br

ABSTRACT

Cryptococcosis is an infectious disease caused by the fungus *Cryptococcus neoformans*, in individuals with low immunity it may affect the central nervous system leading to complications and even death. The Cerebrospinal fluid (CSF) exam is an effective method for the diagnosis. This study addresses the clinical and laboratory features of cryptococcosis related to the CSF, describing the aspects that allow the diagnosis of the disease. This research aimed to develop a bibliographic study of the CSF, cryptococcosis and the diagnosis methods using the CSF, proving their importance. This study followed the exploratory research methodology from scientific articles, essays and books. The CSF microscopy prepared with India ink and cultivated in Sabouraud medium are effective in diagnosis where the cryptococcus is located in the central nervous system, making possible to differentiate cryptococcosis from other diseases of similar clinical conditions. Due to the low success of the treatment of cryptococcosis in advanced stage, it is of great importance the early diagnosis of the disease through the CSF, which will help reduce the mortality rate of patients.

Keywords: cryptococcosis. **Fungus.** cerebrospinal fluid. neurological disease

INTRODUÇÃO

O Líquor cefalorraquidiano (LCR), é um fluido corporal estéril, incolor, produzido pelos plexos coróides e está presente nos ventrículos cerebrais, no espaço subaracnóideo e na medula espinhal. A principal função do LCR é a proteção mecânica que amortece o encéfalo e a medula espinhal contra choques e pressão. Sua análise laboratorial contribui para o diagnóstico e acompanhamento das doenças neurológicas, incluindo a criptococose.^(1,2)

A Criptococose é uma doença infecciosa causada pelo fungo *Cryptococcus neoformans*. Esse fungo é encontrado principalmente nas fezes de aves, como os pombos, considerados os maiores transmissores da doença. A infecção acontece por inalação direta dos esporos. A Criptococose é uma das micoses mais comuns em indivíduos imunodeprimidos, principalmente os portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). O comprometimento da imunidade celular é avaliado como o fator principal para infecção por esse micro-organismo, que mostra preferência pelo sistema nervoso central.^(3,4,5)

Essa afinidade, característica do criptococo, foi determinada à presença no encéfalo e no líquido de quantidades ideais de vitaminas e outras substâncias.

Enquanto o soro normal tem característica anti-criptocócica, o líquido cefalorraquidiano normal não possui essa característica inibidora e é um bom meio nutritivo para o *Cryptococcus*.⁽⁴⁾

Quando na forma meningencefalítica, costuma ser severo o quadro clínico, podendo ser confundido com outros processos subagudos do SNC e leptomeninges (encefalites, abscessos cerebrais e principalmente a neurotuberculose).^(6,7)

O diagnóstico é feito na investigação da presença do *Cryptococcus neoformans* no líquido cefalorraquidiano (LCR), o exame microscópico do líquido cefalorraquidiano com tinta da China oferece melhores possibilidades diagnósticas e o meio de Sabouraud é o mais indicado para a cultura.^(6,7,8)

O estudo da criptococose com foco no diagnóstico precoce tem como finalidade diminuir a taxa de mortalidade em pacientes acometidos pela doença, enfatizando a importância do líquido cefalorraquidiano no diagnóstico dessa patologia e destacando a relevância no diagnóstico da criptococose no sistema nervoso central, bem como os aspectos clínico-laboratoriais.

A metodologia utilizada foi uma pesquisa exploratória, por meio de uma pesquisa bibliográfica que foi desenvolvida a partir de revisões de materiais já elaborados, constituído de artigos científicos, dissertações e livros. Foram utilizados 2 livros, sendo 1 livro clínico de laboratório e um outro que abordou a temática, disponíveis na biblioteca da FPM, publicados no período de 1999 e 2009. Foram utilizados 23 artigos, acessados nas bases de dados Scielo e BVS, publicados entre 1968 e 2015, sendo todos nacionais disponíveis *online*.

A coleta de dados seguiu-se da seguinte forma: leitura objetiva para selecionar o material de interesse na pesquisa, leitura seletiva para verificar o que era mais relevante para a presente pesquisa, registro das informações extraídas de todo o material.

REVISÃO DA LITERATURA

Líquor

Definição e Função

O líquido Cefalorraquidiano (LCR), ou líquor, também chamado de líquido cérebro espinhal, é um fluido corporal aquoso, de aparência clara, estéril e intracraniano. É um ultrafiltrado produzido pelos plexos coróides, presente dentro dos ventrículos cerebrais, onde ocupa o espaço subaracnóideo. O LCR tem como função principal, a proteção que age como um amortecedor para o encéfalo e a medula espinhal contra choques mecânicos. Possui também um importante papel na proteção do sistema nervoso contra agentes infecciosos, atua no suprimento de nutrientes e remoção de resíduos metabólicos do sistema nervoso. ^(1,9,10)

No sistema nervoso central há três barreiras de proteção que vão impedir ou dificultar a passagem de substâncias: barreira hemato-encefálica, do sangue para o tecido nervoso, barreira hemato-liquórica, do sangue para o líquor e barreira líquor-encefálica, do líquor para o encéfalo. Nem sempre vai acontecer um impedimento completo à passagem de uma substância, mas será mais dificultada essa passagem, isso varia de acordo com o tipo de barreira. As barreiras hemato-encefálica e hemato-liquórica são mais resistentes e dificultam ou impedem a passagem de substâncias tóxicas para o cérebro. Já a barreira líquor-encefálica é menos resistente havendo passagem de um número maior de substância que as outras. ^(2,11)

O LCR flui através dos forames, que ligam os ventrículos entre si, preenchendo as superfícies cerebrais e espinhais dentro deste espaço. Na medula espinhal, ele circula até sua parte inferior e retorna para ser absorvido nos vilos aracnóides. Um mecanismo homeostático eficaz é importante para a atividade neuronal. É produzido aproximadamente 500ml/dia e renovado mais de três vezes ao dia. O espaço ventricular tem aproximadamente 20ml de volume, enquanto o volume presente em um adulto é de 120 a 170 ml, e em recém-nascidos é de 10 a 60 ml. ^(1,9,12)

Quanto à aparência e composição, o LCR se assemelha ao plasma sanguíneo ultrafiltrado. Contém, a maior parte de concentração de magnésio e cloreto de sódio e menores concentrações de glicose, proteínas, aminoácidos, ácido úrico, cálcio e fosfato. A formação e a composição do líquido podem ser alterados por processos como infecções, traumas, e outros. ^(9,13,14)

A concentração do líquido em relação à proteína, a nível lombar, é de 0 a 40mg/dl. No plasma são encontrados 80% das proteínas e 20% são produzidas no SN Central. O aumento da concentração das proteínas no LCR acontece devido às alterações da permeabilidade da barreira hemato-encefálica ou do aumento da síntese intratecal de imunoglobinas. ^(1,9,15)

A concentração normal de glicose no LCR corresponde cerca de dois terços da glicemia, ou seja, da glicose sanguínea. Portanto, a avaliação dos níveis de glicose no soro e no LCR é de extrema importância no diagnóstico das meningites bacterianas, tuberculosa e nas meningites por germes comuns e por fungos, pois há diminuição dos níveis da glicose no líquido. ^(1,9,12)

Quanto aos níveis de lactado no LCR, não estão ligados à concentração sanguínea e sim à sua produção intrarraquiana. Como as infecções bacterianas do sistema nervoso central consomem glicose como fonte de energia, vão gerar diminuição dos níveis de glicose e aumento do lactato. Os resultados dos níveis de lactato são de grande importância no diagnóstico diferencial entre as meningites bacterianas e virais. ^(1,9,15)

Devido à íntima ligação do líquido com o SNC e as meninges, é de grande importância sua análise laboratorial para o diagnóstico e para o acompanhamento das doenças neurológicas. Por meio de sua análise laboratorial são identificadas afecções, como hemorragia subaracnóide, malignidade do SNC e desordens desmielinizantes. A análise do líquido proporciona a obtenção de informações essenciais para uma conduta clínica eficiente. ^(11,15)

Tipos de Coleta

A coleta do LCR é de grande importância para detectar alterações da pressão, aspectos, dados químicos e microscópicos. São feitos também exames bacteriológicos e sorológicos, com os dados resultantes é possível ajudar no diagnóstico de doenças do SNC. O líquido possui a vantagem de ser a parte mais

acessível do compartimento aquoso do SNC, para o estudo de doenças neuroimunológicas em seres humanos.^(10,16)

Como essa coleta é um processo invasivo, o exame do LCR só poderá ser realizado pelo profissional médico.^(16,17)

A coleta pode ser feita por três locais: ventricular e suboccipital na parte cranial e lombar. Na ventricular, a punção é feita nos ventrículos laterais, já na suboccipital, feita com punção na cisterna magna, e na lombar, a punção é feita na região medular entre L2 e S2.^(11,17,18)

Há algumas contraindicações na condição do paciente, que são: Hipertensão intracraniana, uso de anticoagulantes, doenças que podem interferir com a coagulação; Processos inflamatórios da pele ou na área de punção; Mal formação na lombar. Os procedimentos pré-analíticos, são de grande importância, pois erros na coleta, transporte e armazenamento são responsáveis por 60% de erros laboratoriais. Outros fatores desse processo, como temperatura e tempo de armazenamento e as condições do preparo da amostra, necessita de cuidados, de padrões para evitar resultados equivocados, que podem comprometer o diagnóstico.^(9,11)

Há uma preferência de coleta para o exame do LCR, que é a por via suboccipital, pois possui vantagens da não ocorrência de cefaleia pós-punção e alterações osteoarticulares da cervical interferem pouco no ato da punção. Para profissionais especializados, o procedimento é simples e rápido.^(15,16)

É colocado um manômetro antes da retirada do LCR, para mostrar a pressão de abertura. Em adultos essa pressão de abertura normal é de 90 a 180mmH₂O em pacientes deitados de lado, é mais elevada em pacientes obesos ou que varia entre 4 e 10mmH₂O.^(15,19)

Criptococose

Definição

A Criptococose, também conhecida como Torulose, é uma doença infecciosa, causada por duas espécies: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, espalhada por todo o mundo acometendo mamíferos domésticos, como o gato e o cão, animais silvestres e o homem. Essa enfermidade é uma micose sistêmica, que

se manifesta por afecções do trato respiratório. Essa levedura quando aspirada, atinge a árvore brônquica, desenvolvendo formas pulmonares da doença. A partir dos pulmões essa levedura pode disseminar-se pela corrente sanguínea, atingindo vários órgãos e tecidos. Se o indivíduo estiver com baixa imunidade, a infecção pode causar danos cerebrais que podem levar a morte. ^(6,7,20)

Esse patógeno se encontra em pessoas (na mucosa oronasal), em frutas (na película externa) e principalmente no solo contaminado com excretas de aves, onde fica sobrevive por mais de dois anos. As aves, principalmente os pombos, são consideradas as principais transmissoras da doença. ^(6,7)

Aspectos Históricos

A etimologia da palavra *Cryptococcus*, se origina da palavra grega “Kryptos”, que significa “escondido”, “secreto”. Foi criada por 1833 por Kurtzing. ⁽²¹⁾

Em 1861, Zenker, fez a primeira exposição da criptococose, porém, não havia métodos de comprovação da cultura do microrganismo. Então, em 1894, na Alemanha o patologista Otto Busse e o clínico Abraham Bucschke, tiveram o crédito da primeira descrição do *Cryptococcus neoformans*, quando isolaram uma levedura através de um sarcoma em uma paciente de 31 anos, que apresentava uma úlcera crônica em região tibial. Na necropsia encontraram leveduras na lesão e em outros órgãos da paciente. Após uma reinoculação na pele da própria paciente, foi confirmada a patogenicidade, que resultou em infecção disseminada e morte. ^(8,21)

Em 1885, Ferdinand Curtis, na França, encontrou uma levedura em uma lesão de quadril de um paciente jovem e notificou o segundo caso de criptococose, mas considerou ser diferente das leveduras descritas por Otto Busse e Abraham Bucschke. No século XX, foi consolidada a **Cryptococcus neofarmans**, como levedura patogênica. Em 1902, Fronthingham confirmou a patogenicidade da levedura, a partir de uma lesão no pulmão de um cavalo que era igual aos fungos isolados por Busse e Bucschke. Comprovando que o fungo era patogênico para humanos e animais. ^(8,21)

Em 1905, Von Hansemann descreveu o *Cryptococcus neoformans* como o agente causador da meningoencefalite, que foram descritas lesões, de aspecto gelatinoso, com bastante leveduras. ⁽²¹⁾

Após dois anos, foram descritos mais dois casos de meningoencefalite, por Stoddard e Cutler, que denominaram o fungo de *Torula histolytica* e a doença torulose. Alguns anos depois, estudos foram publicados mostrando o uso de tinta de nanquim para visualizar a cápsula em cultivos. ⁽²¹⁾

Em 1935, Benham estudou isolados que foram recuperados de humanos, sendo algumas cepas patogênicas, que foram identificados como *Saccharomyces*, *Cryptococcus* e *Torula*, que foram analisadas as possíveis semelhanças e diferenças, em relação à morfologia e patogenicidade, foi concluído que pertenciam a um só gênero e espécie, do gênero *Cryptococcus*. ^(8,21)

Em 1949, foi descrito por Evans as diferenças sorológicas entre as cepas isoladas de pacientes infectados pela Criptococose. Posteriormente, foram descritos os sorotipos A, B, C e o D. Em 1950, foi publicado por Emmons, um estudo apresentando a relação de *Cryptococcus neoformans* com matéria orgânica infectada em excretas de pombos. ⁽⁸⁾

Em 1970, foram isolados pelo Gatti e Eeckels, cepas de *C. neoformans* de um paciente com meningoencefalite. Neste mesmo ano, Vanbreuseghem e Takashio relataram que o isolado gerava células alongadas “in viro” e na cultura parecia com um típico isolado de *Cryptococcus neoformans*, descrevendo assim, uma nova variedade, o *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. Em 1945, Kwon-Chung, determinou que *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. neoformans* var. *grubii*, eram diferentes quanto às características neofológicas, bioquímicas e sorológicas. ⁽²¹⁾

Desde o início, os isolados de *Cryptococcus*, via taxonomia passa por novas revisões. Através de bases genéticas, houve alterações taxonômicas das variedades de espécie: *C. neoformans* e *C. gattii*. ^(8,21)

Etiologia

O agente etiológico dessa micose é o *Cryptococcus neoformans*, um fungo unicelular que mede de 5 a 20 micro de diâmetro. Ele é facilmente diferenciado de outras leveduras, pois se apresenta envolto por uma cápsula gelatinosa. Por ser um fungo inerte, ele pode permanecer muito tempo em um tecido, sem provocar infecções. Nas formas histopatológicas podem ser de granuloma, meningoencefalite ou meningite. A forma granulomatosa pode estar associada a leptomeningite ou solitária. Já nas formas generalizadas atingem vários órgãos: sistema nervoso

central, rins, pulmões, gânglios abdominais e outros tecidos. Existem dois tipos de lesões: lesão gelatinosa e lesões granulomatosa. Sendo a primeira mais precoce e a segunda mais tardia. ^(3,20)

As manifestações clínicas nas formas leptomeníngicas, se apresenta sob diversas formas sendo a cefaléia o sintoma mais comum. Geralmente, o início é gradual, com cefaléia frontal, depois contínua e mais forte. São frequentes também tonturas, rigidez e dor na nuca. Pode ocorrer uma suspeita clínica, quando existir na anamnese uma afecção pulmonar não identificada que antecedeu o quadro da meningoencefalite. ⁽⁴⁾

Na atualidade, são identificados os sorotipos A,B,C,D e AD do *Cryptococcus neoformans*, que são distribuídos em três tipos: **C. neoformans** variedade *neoformans* (sorotipos A, AD, D), **C. neoformans** variedade *gattii* (sorotipos B,C) e *C. neoformans* variedade *gattii* (sorotipo A) que são diferentes em aspectos bioquímicos, ecológicos, antigênicos e genéticos. O *Cryptococcus gattii* teria sido disseminado para vários países através das sementes do *Eucalyptus camaldulensis* proveniente da Austrália, nesse país, essa variedade *gattii* foi isolado em folhas, sementes, flores e cascas de eucalipto. A principal estrutura responsável por essa infecção são os basidiósporos que estão nas flores que vai funcionar como hospedeiro para esse fungo. Recentemente, foi observada a existência de *Cryptococcus neoformans* em ocos de árvores como *Cassia grandis*, *Senna Multijuga*, e *Ficus microcarpa*, mostrando outras fontes desse fungo. ^(3,4)

O criptococo está vastamente espalhado na natureza, sendo que muitos indivíduos o inalam, mas poucos vão apresentar infecção. A principal fonte de infecção são as habitações de aves, em especial os pombos, que mesmo não sendo susceptíveis carregam mecanicamente o fungo. A profilaxia para a prevenção da doença, inclui o controle dos pombos. ⁽³⁾

Transmissão

Geralmente, a infecção acontece pela inalação de esporos do *Cryptococcus neoformans*, que são encontrados na poeira contaminada, que leva à uma infecção primária do sistema respiratório, acometendo mais a região nasal. Provavelmente, a porta de entrada para a infecção seja o pulmão, por acometer as vias respiratórias procedendo ocorrências da criptococose do sistema nervoso central. Porém, há

casos que não que não apresentam uma lesão pulmonar, por isso, há probabilidade de infecção por outros pontos como a pele, a naso-faringe e eventualmente, os intestinos. ^(3,21)

A infecção cutânea secundária ocorre em 10-15% dos casos de criptococose sistêmica e se manifesta através da disseminação fúngica. Clinicamente, as lesões se manifestam sob a forma de nódulos, vesículas, bolhas, abscessos, celulite ou outras infecções sistêmicas. O grau de imunidade do hospedeiro influi diretamente na apresentação do quadro clínico e na disseminação da infecção. A criptococose acomete o sistema nervoso central, geralmente manifestando-se como meningite criptococócica em indivíduos imunossuprimidos. Nesses indivíduos, por causa da ausência de inflamações, vão crescer massas gelatinosas desse fungo nos tecidos. Já em casos de imunossupressão grave, vai haver disseminação da infecção para a pele, ossos e órgãos parenquimatosos. Em indivíduos com doença crônica, vai ocorrer reação granulomatosa. ^(3,21)

Nos casos de criptococose, o *C. neoformans* é em particular o mais comum no mundo. Esse tipo de sorotipo apresenta mais de 95% dos casos de criptococose oportunística. No sul e sudeste do Brasil, prevalece em homens a criptococose associada à AIDS, causada por *Cryptococcus neoformans*, de 35 a 40% letais e nos casos de *Cryptococcus gattii* ocorrem raramente. Já no norte e nordeste do Brasil, ocorre bastante casos de criptococose em indivíduos sem traços de imunossupressão, tanto nos sexos masculino e feminino, HIV negativos, causados pelo *Cryptococcus gattii*. ^(21,22)

Análise e Diagnóstico

A análise laboratorial se baseia nos exames: físico, citológico e bioquímico, que usualmente colhe-se em três tubos estéreis identificados e marcados numericamente. Um tubo para as análises bioquímicas e sorológicas, o segundo para cultura (microbiologia) e em um terceiro tubo normal para a citologia para contagens celulares. ^(9,23)

Quando a amostra for coletada em apenas um tubo, deve-se primeiro envia-lo para análise de bacteriologia, em seguida, para a de hematologia, depois para a imunoquímica. É importante que o local da técnica seja identificado nos tubos, pois

as características citológicas e bioquímicas podem variar de acordo com o local onde foi feita a punção. Depois de coletada, a amostra deve estar no laboratório no máximo 2 horas, pois, depois dessa hora podem ocorrer degradação de eritrócitos, leucócitos, a glicose pode diminuir, e pode aumentar a concentração de proteínas. A temperatura ideal para armazenar o líquido é entre 5°C e 12°C, para a preservação das células. ^(15,24)

O exame físico é realizado de maneira que o tubo com a amostra, deve ser colocado contra uma área com letras e deve ser vista facilmente através desse tubo. A turvação indica aumento de bactérias, fungos, aumento celular, leucócitos e proteínas, antes e depois de ser centrifugado a cor deve ser verificada. O LCR com xantocromia, após a centrifugação, tem coloração amarela, laranja ou rósea, indica hemólise que resulta na degradação da hemoglobina, ou concentrações elevadas de bilirrubinas ou proteínas, alterações vasculares e infecções. É observado, em recém-nascidos, prematuros a xantocromia, por causa da imaturação hepática. Na hora da realização da punção, pode acontecer de ter traumas que pode provocar sangramento, que se não for investigado, pode ocasionar erro no diagnóstico, pois a amostra fica igual a uma amostra com hemorragia subaracnóide, com uma coloração vermelha. Para se diferenciar um acidente de punção de uma hemorragia subaracnóide, verifica sua pressão inicial e a cor da amostra depois da centrifugação que tem que está clara. Observa-se também coágulo em amostras com acidente de punção, esse coágulo pode dificultar na precisão de contagens de células, por conterem células que vão ser inflamatórias. ^(15,23)

O diagnóstico baseia-se na pesquisa dos fungos através do exame do líquido cefalorraquidiano, do cultivo e detecção do antígeno capsular. No microscópio essa levedura é observada também através de vários materiais como: o líquido, urina, porções de tecido, escarro. Geralmente, o diagnóstico se baseia no teste microscópio de leveduras encapsuladas manifestadas por tinta de china, em cultura com o crescimento do fungo e na identificação do antígeno capsular e materiais genéticos de amostras biológicas, sendo esta de maior sensibilidade e presteza. ^(2,20,21)

No diagnóstico da infecção ainda na fase pulmonar é importante certificar, que não aconteça o espalhamento da doença, principalmente para o sistema nervoso central, por necessitar de um tratamento destrutivo nos casos da neurocriptococose. A técnica da tinta da china pode ser realizada logo após a

punção lombar, tornando visível as leveduras encapsuladas com diâmetro de 5-20 µm. Essa levedura, pode ser vista também no escarro, no LCR, no pus de abscesso, quando feita a contagem de células fúngicas e der acima de 10⁴ UFC/ml, não manifestando evolução. Usando o hidróxido de potássio com a tinta Parker superchrome blue black ou uma solução de 0,1% de branco de calco flúor, irá ajudar na visualização dos fungos, junto a centrifugação do líquido por dez minutos, que irá aumentar a sensibilidade.⁽²⁰⁾

O *Cryptococcus neoformans* e o *Cryptococcus gattii*, semeadas em meio de cultura como ágar Sabouraud, crescem facilmente, após 48-78 horas de incubação, a 35°C, já podem ser observadas. A cultura do líquido será positiva em 89% dos pacientes que não tenham infecções por HIV e em 95-100% de pacientes com HIV. Na doença disseminada, a hemocultura pode indicar a presença do fungo.^(6,20)

A detecção do antígeno do polissacarídeo capsular do *Cryptococcus spp* na urina, no soro e no LCR é muito utilizada e é um dos principais testes sorológicos. A identificação desse antígeno abrange diferentes técnicas como: imunoensaio enzimático(EIA), aglutinação de partículas de látex(LA) e imunocromatografia por Lateral-Flow-Assay(CrAg LFA). O LA emprega partículas de látex revestidas com anticorpos policlonais para a cápsula criptocócica. Esses testes de aglutinação para o antígeno criptocócico estão entre 93-100% de sensibilidade e especificidade. A detecção do antígeno capsular de *Cryptococcus* pela Aglutinação de partículas de látex, é realizada no sangue, urina e no LCR. Geralmente, na prática, a detecção de antígeno é realizada em amostras do líquido e soro. Os resultados da análise do antígeno criptocócico são positivos no soro e líquido em 90% dos pacientes, já quando a infecção está fora do SNC, o teste tem menor positividade.⁽²⁰⁾

Os testes de ELISA detecta tanto antígenos como os anticorpos. Esse teste revela antígenos em qualificações mais baixas e será mais rápido na infecção da criptococose. Os anticorpos no geral, aparecem no decorrer do tratamento e o paciente já em recuperação. Foi desenvolvido para pesquisa de antígeno criptocócico na urina, no soro e líquido, o ensaio conhecido como Lateral-Flow-Immunoassay, que é um teste sensível, rápido, de fácil aplicação, uma opção acessível e segura para diagnosticar infecções em indivíduos com suposição de infecção por *Cryptococcus spp*.⁽²⁰⁾

Antigamente, o diagnóstico da neurocriptococose era realizado pela necropsia, hoje em dia, o diagnóstico pode ser confirmado pelo teste no LCR, que

será a microscopia do líquido preparado com tinta da china e cultura em meio de Sabouraud, que são suficientemente sensíveis quando localizada no Sistema nervoso central. ^(7,20)

Em estudos de casos de criptococose do SNC, o tratamento com anfotericina-B se mostrou mais eficiente quando o diagnóstico foi precoce, pois a ação do medicamento reduzindo a carga fúngica não é imediata. Nos casos em que o tratamento se iniciou nos estágios finais de evolução da doença houve o óbito. ⁽⁶⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a criptococose é causada pelo *Cryptococcus neoformans*, fungo vastamente espalhado pela natureza. Apesar disso poucos indivíduos vão apresentar quadro clínico de infecção, pois o grau de imunidade influi diretamente no quadro clínico e disseminação da doença. A criptococose ataca o Sistema Nervoso Central e quando associada à síndrome da imunodeficiência adquirida tem alta taxa de mortalidade.

O diagnóstico precoce é necessário e de extrema importância, visto que, a maneira mais eficiente é a detecção do antígeno no Líquor cefalorraquidiano, positivo em 90% nos pacientes. O exame do LCR é importante porque na forma meningecefálica o quadro clínico pode ser confundido com outros processos subagudos do SNC e leptomeninges atrasando o tratamento.

Atualmente a expectativa de vida dos portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida e de outras doenças ligadas à imunossupressão aumentou consideravelmente, portanto é imprescindível que esses avanços sejam acompanhados pelo diagnóstico correto da criptococose, possibilitando o tratamento dentro do período hábil para que o paciente não chegue a óbito pela doença.

O Biomédico se insere nesse contexto, pois é de grande relevância para avaliação das amostras coletadas, execução das análises e efetivar pesquisas relacionadas na área da saúde para buscar métodos mais eficazes de detectar a presença do criptococo precocemente e possibilitar um tratamento mais eficiente.

REFERÊNCIAS

- 1 Bim C, Camilo RJ, Maset AL, Mansur SS, Vieira EDR. Caracterização Hidrodinâmica de dispositivos para drenagem externa de líquido cefalorraquidiano. CIBEM10. 2011;(10).
- 2 Nascimento JF, Bó SD, Farias MG, Santos KSD, Rosso R. Utilização da Automação em Hematologia Sysmex 2100 Roche para a contagem de células de líquido cefalorraquidiano. Ver Ciência em Movimento. 2010;12(24):17-25.
- 3 QueirozJPAF, SousaFDN, LageRA, IzaelMA, SantosAG. Criptococose- Uma revisão bibliográfica. Acta Veterinaria Brasilica. 2008; 2(2):32-8
- 4 GiorgiDR, ReisJB, BeiA, FilhoJBR. Criptococose do sistema nervoso central.Arq Neuro-psiquiatria. 1974; 32(2): 78-92
- 5 MoreiraTA, FerreiraMS, RibasRM, BorgesAS. Criptococose: estudo clínico-epidemiológico,laboratorial e das variedades do fungo em 96 pacientes.Rev. da Sociedade Brasileira de Medicina tropical.2006;39(3):255-8.
- 6 Spina-FrançaA, SilvaJB. Diagnóstico e Tratamento da criptococose do sistema nervoso central. Arq Neuro- Psiquiat. 1968;26(2):115-26
- 7 FontanaMH, CoutinhoMF, CamargoES, SovieroB, LimaSSF, MatusiakR, DiasCG. Neurocriptococose na infância. Arq. Neuro-psiquiatria. 1987; 45(4):404-11
- 8 Neto LVP. Aspectos clínicos, Epidemiológicos e Laboratoriais da Criptococose no estado do Ceará entre os anos de 1985 e 2010, bem como efeitos de antirretrovirais inibidores da Protease sobre virulência e crescimento de **Cryptococcus neofarmans** in Vitro. [Dissertação]. Fortaleza: Universidade do Ceará; 2011.
- 9 DimasFL, Puccioni-SohlerM. Exame do líquido cefalorraquidiano: influência da temperatura, tempo e preparo da amostra na estabilidade analítica. J Bras Patol Med Lab. 2008; 44(2):97-106

10 Leite LCP, Leão MTC, Borges WS. Comparação entre técnica manual e sistema automatizado para análise de culturas de líquido cefalorraquidiano em suspeitas de meningites. Cadernos da Escola de Saúde. 2012, (11):153-67.

11 SousaMO. Estudo do perfil dos exames de líquido, com diagnóstico de meningite, em um Hospital de referência de Salvador.[Monografia]. Salvador: Faculdade de Medicina da Bahia;2012

12 Strasinger SK, Lorenzo MSD. Líquido Cefalorraquidiano. Urinálise e Fluídos Corporais. 5 ed. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2009.

13 Reis-Filho JB. Função de drenagem purificadora do Sistema nervoso central pelo líquido cefalorraquidiano. Arq. Neuro-psiquiatria. 1983; 41(1)

14 Moura MTR. Níveis de transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e acetilcolinesterase em líquido cefalorraquidiano de canis familiaris. Rev. Fac. Med. Vet. 1968; (7); fase 4:76-782.

15 ComarSR, MachadoNA, DozzaTG, HaasP. Análise citológica do líquido cefalorraquidiano. 2009; 31(74,75,76):92-103

16 MillerO, Gonçalves R.R. Laboratório para clínico.8ed. São Paulo: Atheneu;1988

17 MachadoLR; CanutoR, TakayanaguiOM, AlmeidaSM, LivramentoJA. Coleta do líquido cefalorraquidiano, termo de consentimento livre e esclarecido e aspectos éticos em pesquisa. Arq Neurpsiquiatr. 2002; 60(3):681-4

18 Diniz BSO, Forlenza OV. O uso de bromareadores no líquido cefalorraquidiano no diagnóstico precoce da doença de Alzheimer. Ver. Psiq. Clín. 2007; 34(3):144-5.

19 Costa E, Guimarães A, Freire F, Veiga VG. Fístulas espontâneas de líquido cefalorraquidiano do ouvido médio: A propósito de um caso clínico. 2011; 49(4):299-303

20 FilhoCAM. Detecção de antígeno criptocócico no líquido cefalorraquidiano por 'Lateral Flow Assay' em casos suspeitos de meningite no estado do Piauí [Dissertação de Mestrado]. Teresina: Fundação Oswaldo Cruz- Fiocruz;2015

21 FrançaJS. Características clínicas, Epidemiológicas e laboratoriais da criptococose no Distrito Federal no período de 2006 a 2013. [Dissertação de mestrado]. Brasília: Universidade de Brasília;2013.

22 Livramento JA, Machado LR, Moreno-Carvalho AO, Lacaz CS, Spina-França A. Líquido cefalorraqueano em infecções do sistema nervoso central por Mleveduras do Gênero Candida. Arq. Neuro-psiquiatria. 1989;47(3):332-6.

23 LucasRAP, GodoyRC, SaccoSR. Análise do líquido cefalorraquidiano em pequenos animais. Rev Científica de medicina veterinária. 2008; 7(11):1-7.

24 Livramento JA, Machado LR, Spina-França A. Sinalização do líquido cefalorraqueano em doenças inflamatórias crônicas do Sistema Nervoso Central. Arq. Neuro-psiquiatria. 1986; 44(4):341-8

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

Agradeço aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Agradeço ao meu marido, Mark, pelo amor, apoio, paciência, companheirismo ao longo de todos esses anos.

Agradeço ao meu orientador, Bruno Tolentino Caixeta, pelo suporte prestado, pelas correções e incentivos.

Agradeço aos meus professores, pela dedicação e aprendizado.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.