

Criptococose associada à AIDS. A importância do cultivo da urina no seu diagnóstico

Importance of culture of urine in the diagnosis of AIDS associated cryptococcosis

Vitor Laerte Pinto Junior¹, Maria Clara Gutierrez Galhardo², Márcia Lazéra², Bodo Wanke², Rosani Santos Reis² e Maurício Perez³

RESUMO

Neste estudo retrospectivo analisamos 70 pacientes HIV positivos com criptococose em um período de 16 anos. Os espécimes com melhor rendimento diagnóstico foram o LCR (97,8%), seguido do cultivo do sedimento urinário (86,7%) e sangue (58,8%). Concluímos que a urina pode ser uma ferramenta útil para o diagnóstico da criptococose.

Palavras-chaves: Criptococose. Síndrome da imunodeficiência adquirida. Diagnóstico. Urina. *Cryptococcus neoformans*.

ABSTRACT

In this retrospective study we analyzed 70 HIV patients with cryptococcosis over a 16-years period. The specimens with the best positivity were CSF (97.8%) followed by the culture of urine sediment (86.7%) and blood culture (58.8%). We conclude that the urine could be a useful tool for the diagnosis of cryptococcosis.

Key-words: Cryptococcosis. Acquired immunodeficiency syndrome. Diagnosis. Urine. *Cryptococcus neoformans*.

A criptococose é a micose de caráter sistêmico mais freqüente em pacientes com AIDS⁶ e a terceira causa de doença oportunista do sistema nervoso central (SNC). Sua prevalência varia de 2,9 a 13,3% representando importante causa de mortalidade na AIDS, apesar do tratamento específico^{3 4 5}.

A maior parte dos casos de criptococose é diagnosticada como meningoencefalite de caráter insidioso⁸, tendo febre como manifestação/sintoma mais freqüente, ao lado das relacionadas ao acometimento do sistema nervoso central como cefaléia, vômitos e queda do estado de consciência¹¹, presentes em cerca da metade dos casos. A inespecificidade das manifestações clínicas acarreta muitas vezes em atraso no diagnóstico e contribui para a gravidade da doença.

Com o objetivo de avaliar os principais espécimes clínicos que evidenciaram *Cryptococcus neoformans* ao exame microscópico direto e/ou no isolamento em cultivo e que levaram ao diagnóstico da micose, foi realizado um estudo retrospectivo de série de casos de pacientes HIV positivos, atendidos no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) da Fundação Oswaldo Cruz/RJ (FIOCRUZ).

Foram incluídos todos os pacientes comprovadamente HIV positivos que apresentaram espécime clínico com isolamento de *C. neoformans* no laboratório de micologia, ou resultado de exame histopatológico, acompanhados no IPEC no período de 1987 a 2002.

Os pacientes foram estratificados nas seguintes formas clínicas:

- Forma disseminada com meningite: caracterizada pela presença do fungo no líquido.
- Forma Disseminada sem meningite: caracterizada pela presença do fungo em amostras de urina (exame direto e cultura) e/ou sangue (hemocultura), com exame líquórico negativo (direto e cultura).
- Forma disseminada com líquido não testado: forma de exceção, quando não foi realizado o exame micológico do líquido.
- Colonização: espécimes de escarro positivos para o fungo e negativo para os outros espécimes (principalmente líquido, sangue e urina).

1. Centro de Estudos do Instituto Estadual de Infectologia São Sebastião, Rio de Janeiro, RJ, 2. Laboratório de Micologia Médica do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, 3. Núcleo de Estudos em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.

Endereço para Correspondência: Dr. Vitor Laerte Pinto Jr. R. Carlos Seidl 395, Caju, 20931-003 Rio de Janeiro, RJ.

Tel: 55 21 2580-0868

e-mail: vitorlaerte@terra.com.br

Recebido para publicação em 10/2/2005

Aceito em 27/1/2006

No período, foram diagnosticados 73 casos de pacientes que evidenciaram o *C. neoformans* em algum espécime clínico, três casos de diagnóstico em exclusivo de necropsia foram excluídos. Dos 70 pacientes incluídos 58 (82,9%) eram do sexo masculino e 12 (17,1%) eram mulheres, apresentando idade média de 37 anos. Quanto ao comportamento de risco para exposição ao HIV, 39 (55,7%) pacientes referiram comportamento homo ou bissexual, 22 (31,4%) comportamento heterossexual, 5 (7,1%) diziam-se usuários de drogas intravenosas e 2 (2,9%) pacientes afirmaram que foram infectados através de hemotransfusão. Em 2 (2,9%) casos não foi possível se definir esta variável.

A criptococose foi a primeira doença oportunista para 11 (15,7%) dos pacientes, que no momento da internação, apresentavam linfometria T CD4 média de 40 células/mm³. A frequência das formas clínicas e a positividade de diversos espécimes testados para cada uma estão ilustradas na Tabela 1.

A frequência das formas clínicas observadas foi semelhante à de outros estudos, como a disseminada com meningite de 75 a 86% e a criptococemia sem invasão/disseminação para o SNC, na ordem de 15%^{13,5,13}. O espécime clínico mais colhido e com melhor rendimento (97,8%) foi o LCR, refletindo o tropismo de *C. neoformans* para o SNC, seguido da urina, com 71,6%. A urina revelou ser o espécime clínico mais importante para o diagnóstico da forma disseminada sem acometimento meníngeo (86,7%) e o segundo mais importante com acometimento meníngeo (64,9%) sendo inclusive superior à hemocultura (58,8%). Estes resultados contrastam com estudos prévios que encontraram uma frequência de isolamento do *C. neoformans* na urina em torno de 40%, mesmo em pacientes com AIDS^{1,2,4} e outros de 8 a 10%⁸. Estes estudos empregaram o meio Sabouraud para isolamento do *C. neoformans*. Os nossos achados refletem a rotina diagnóstica implantada na instituição: coleta de três amostras de urina de todos pacientes com AIDS e febre, para avaliação específica quanto à presença de *C. neoformans*. Em relação à hemocultura, a frequência de isolamento com a técnica de lise centrifugação em pacientes com AIDS apresenta

uma sensibilidade de 70%, superior à observada neste estudo¹². Esta técnica não foi utilizada em todas as amostras. O exame de escarro, realizado em 20 pacientes, apresentou positividade máxima de 16,7% revelando que o pulmão, como porta de entrada da infecção, constitui um alvo para diagnóstico, mas de rendimento bem menor que os espécimes de urina na presente casuística, onde predomina a forma disseminada. Outros espécimes revelaram *C. neoformans*, confirmando que o fungo pode infectar qualquer órgão, em especial a pele e a próstata, visto em 7 dos 70 casos.

O acometimento genitourinário na criptococose, tal como pielonefrite, lesões do trato genitourinário baixo, é considerado raro⁸. Com relação à próstata, a infecção por *C. neoformans* não causa sintomas de prostatite, mas o agente pode ser isolado do tecido prostático ocasionalmente. A presença desta levedura na urina, sem evidência de lesão no trato urinário, pode ser relacionada à fungemia, seguida de passagem pelo endotélio vascular e membrana basal glomerular, alcançando o filtrado tubular, onde encontra progressivamente elevada osmolaridade e concentração de uréia e creatinina, condições metabólicas particularmente favoráveis à sua reprodução. A presença de fungos na urina de pacientes com fungemia já foi observada também em outras micoses sistêmicas como a coccidioidomicose⁹. Outro aspecto a considerar é o meio de cultivo utilizado para urina, geralmente Sabouraud-glicose 2% sem cicloheximida, onde *C. neoformans* forma colônias lisas em tons de cor creme o que não permite a diferenciação visual de múltiplas colônias similares de outras leveduras e bactérias. Um diferencial importante em nosso trabalho foi o uso de meio ágar com sementes de niger para urinocultura (meio NSA), que permite discriminar um número mínimo de colônias de *C. neoformans* em meio a muitos outros microrganismos pela cor marrom escura. Neste caso, o meio NSA funciona como meio seletivo e indicador¹⁰, baseado na capacidade de *C. neoformans* de produzir melanina quando cultivado em substratos contendo produtos difenólicos, devido à ação de uma fenol-oxidase,

Tabela 1 - Espécimes clínicos que evidenciaram *Cryptococcus neoformans* e sua associação com as formas clínicas em 70 pacientes soropositivos para o HIV.

Espécime	Forma clínica						colonização do trato respiratório (n=4)	
	com meningite (n=47)		disseminada sem meningite (n=16)		indefinida (n=3)			
	pos\total	%	pos\total	%	pos\total	%	pos\total	%
Líquor/cultura	45\46	97,8	0\14	-	-	-	-3	-
Líquor/ex direto	36\45	80,0	0\14	-	-	-	-4	-
Urinocultura	24\37	64,9	13\15	86,7	1\1	100,0	-	-
Urina/ex direto	13\37	35,1	6\15	40,0	1\1	100,0	-	-
Hemocultura	20\34	58,8	6\13	46,2	3\3	100,0	-4	-
Pele/cultura	4\9	44,4	-	-	-	-	-	-
Pele/ex direto	1\10	10,0	-	-	-	-	-	-
Medula óssea/ cultura	2\5	40,0	2\4	50,0	-	-	-	-
Escarro/cultura	3\14	21,4	1\6	16,7	-	-	4\4	100,0
Escarro/ex direto	1\14	7,1	0\10	-	-	-	2\5	40,0
Urina pós-massagem prostática	-1	-	2\2	100,0	-	-	-	-

pos = positivos; ex = exame; - = não realizado ou nulo

enzima considerada de fundamental importância para sua identificação e virulência.

Recentemente, a presença de *C. neoformans* na urina foi evidenciada em 16 pacientes num período de estudo de 12 anos. Destes, 81% apresentavam a forma disseminada, confirmando a sua importância no diagnóstico precoce da micose. Entretanto, o meio de NSA não foi utilizado⁷.

No presente estudo, a realização de exame micológico rotineiro da urina semeada em meio de NSA se mostrou de grande utilidade para o diagnóstico da criptococose, principalmente porque é de mais fácil obtenção e menor risco biológico quando comparado ao sangue e ao LCR. Recomendamos coleta de urina matinal em três dias consecutivos e cultivando-a em meio NSA, como procedimento rotineiro diagnóstico de febre em pacientes com aids. Este recurso simples e de baixo custo deve ser lembrado também como alternativa para os casos ambulatoriais e de hospital-dia nos quais pode ser difícil realizar coleta de amostras para hemocultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Antinori S, Galimberti L, Magni C, Casella A, Vago L, Mainini F, Piazza M, Nebuloni M, Fasan M, Bonaccorso C, Vigevani GM, Cargnel A, Moroni M, Ridolfo A. *Cryptococcus neoformans* infection in a cohort of Italian AIDS patients: natural history, early prognostic parameters, and autopsy findings. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 20:711-717, 2001.
2. Arechavala AI, Robles AM, Negroni R, Bianchi MH, Taborda A. Value of direct and indirect diagnostic methods in systemic mycoses associated with AIDS. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* 35:163-169, 1993.
3. Chuck SL, Sande MA. Infections with *Cryptococcus neoformans* in the acquired immunodeficiency syndrome. *New England Journal of Medicine* 321:794-799, 1989.
4. Clark RA, Greer D, Atkinson W, Valanis GT, Hyslop N. Spectrum of *Cryptococcus neoformans* infection in 68 patients infected with human immunodeficiency virus. *Reviews of Infectious Diseases* 12:768-777, 1990.
5. Darras-Joly C, Chevret S, Wolff M, Matheron S, Longuet P, Casalino E, Joly V, Chochillon C, Bedos JP. *Cryptococcus neoformans* infection in France: epidemiologic features of and early prognostic parameters for 76 patients who were infected with human immunodeficiency virus. *Clinical Infectious Diseases* 23:369-376, 1996.
6. Dismukes WE. Cryptococcal meningitis in patients with AIDS. *Journal of Infectious Diseases* 157:624-628, 1988.
7. Kiartiburanakul S, Sungkanuparph S, Buabut B, Pracharktam R. Cryptococcuria as a manifestation of disseminated cryptococcosis and isolated urinary tract infection. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 57:203-205, 2004.
8. Perfect JR, Casadevall A. Cryptococcosis. *Infectious Diseases Clinics of North America* 16:837-874, v-vi, 2002.
9. Petersen EA, Friedman BA, Crowder ED, Rifkind D. Coccidiodouria: clinical significance. *Annals of Internal Medicine* 85:34-38, 1976.
10. Staib F. On The Creatin-Creatinine Assimilation In Yeast-Fungus Diagnosis. *Zentralblatt fur Bakteriologie* 191:429-432, 1963.
11. Sugar AM. Overview: cryptococcosis in the patient with AIDS. *Mycopathologia* 114:153-157, 1991.
12. Yagupsky P, Menegus MA. Cumulative positivity rates of multiple blood cultures for *Mycobacterium avium*-intracellulare and *Cryptococcus neoformans* in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 114:923-925, 1990.
13. Zuger A, Louie E, Holzman RS, Simberkoff MS, Rahal JJ. Cryptococcal disease in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Diagnostic features and outcome of treatment. *Annals of Internal Medicine* 104:234-240, 1986.