
Cryptococcus neoformans: importância no diagnóstico clínico das formas polimórficas

Lidiane de OLIVEIRA¹, Marcia de Souza Carvalho MELHEM²

¹Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências – Coordenadoria de Controle de Doenças-Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo

²Núcleo e micologia – Centro de Parasitologia e Micologia-Instituto Adolfo Lutz

A criptococose, micose sistêmica causada por leveduras do gênero *Cryptococcus*, é uma das principais doenças invasivas em humanos. Estima-se que cerca de 957.000 casos de meningite por *Cryptococcus* spp. ocorram todo ano no mundo em indivíduos portadores do vírus HIV, resultando em mais de 600.000 mortes¹. Embora a meningoencefalite seja a forma letal, a infecção pulmonar é a mais freqüente, desde que, a via de aquisição da criptococose é por inalação de células fungicas. A criptococose também pode apresentar-se de forma disseminada, afetando órgãos como pele, rins, fígado e baço. Duas espécies, *C. neoformans* e *C. gattii*, são atualmente reconhecidas como os agentes mais comuns².

A criptococose é considerada uma das doenças definidoras de AIDS pelo Ministério da Saúde e um problema de saúde pública em nosso país. Devido ao fato de não ser uma doença de notificação compulsória, é difícil definir o número de casos e de óbitos relacionados a essa grave micose, contudo, as taxas de mortalidade por criptococose em pacientes com AIDS variam entre 45% e 65%³. Outras condições imunossupressoras, além da AIDS, estão relacionadas à criptococose por *C. neoformans* como o uso extensivo de corticoides

e transplantes de órgãos. A infecção por *C. gattii*, por sua vez, ocorre geralmente em indivíduos sem imunossupressão aparente².

As principais características utilizadas na identificação de *Cryptococcus* spp. são: observação ao exame direto de células leveduriformes, com ou sem brotamento, envoltas por cápsula mucopolissacarídica, realizado por coloração com tinta da China, tanto do material biológico quando do isolado. Entretanto, alguns estudos têm demonstrado que *Cryptococcus* spp. pode apresentar alterações em seu aspecto fenotípico habitual que podem dificultar no correto diagnóstico etiológico. Sabe-se que tais alterações, ou polimorfismo, podem funcionar como mecanismo que tornam esta levedura capaz de resistir às pressões do ambiente e ajudar a sua manutenção dentro do hospedeiro. Dentre essas alterações estão a formação de pseudohifas e aumento ou diminuição do tamanho celular observadas na amostra biológica, como: líquido, tecidos, urina e outros líquidos ou secreções corporais⁴.

A formação de pseudohifas em células de *C. neoformans* parece estar relacionada à baixa virulência desses isolados como visto em inoculação em camundongos. Foi observado que animais inoculados com isolados produtores apenas de blastoconídios adoeceram e morreram logo após 26 h de incubação,

enquanto os que foram inoculados com formas de pseudohifas permaneceram saudáveis durante o mesmo período. Ao analisarem a interação de *C. neoformans* e de amebas *Acanthamoeba polyphaga*, um dos seus predadores naturais, Neilson e colaboradores observaram que, além da formação de pseudohifas, essas estruturas não eram fagocitadas⁵.

A formação de células menores ou maiores do que as usuais, denominadas de formas anãs ou microformas (< 1µm de diâmetro) e células gigantes ou titãs (>10 a 100µm de diâmetro) é outro aspecto do polimorfismo em *Cryptococcus neoformans*. Embora as células titãs produzam também células-filhas de tamanho normal, supõe-se que o desenvolvimento de tais células esteja relacionado ao ciclo celular, desde que, por algum motivo não ocorre fissão, fazendo com que essas sejam tetraploides e octoploides, contendo maior quantidade de DNA⁶. Feldmesser e colaboradores verificaram que uma proporção significativa de células fúngicas em pulmão de camundongos aumentou de tamanho (900 vezes) em relação ao seu cultivo in vitro⁷. Resultados semelhantes foram observados por Bouklas e colaboradores durante infecção experimental, o que leva a acreditar que a presença de células com tamanho maior do que as formas típicas pode estar relacionada à cronicidade da doença⁸.

As células anãs são, em geral, encontradas dentro de macrófagos, mas a interferência dessa ocorrência para evolução da infecção é desconhecida. As células titãs são mais resistentes à fagocitose, além de possuírem a capacidade de tolerância a danos oxidativos e nitrosativos do hospedeiro. A maior resistência associada à capacidade de escape do sistema imunológico é benéfica para a sobrevivência de *Cryptococcus* spp. em pulmões no processo inicial da infecção; porém, provavelmente, podem impedir a sua disseminação para o sítio principal da doença, o sistema nervoso central⁶.

Até o momento, pouco se sabe sobre frequência e natureza do polimorfismo celular em isolados de

C. neoformans, seja pelo aumento de tamanho celular ou pela pseudofilamentação, mas alguns estudos demonstram que estas formações atípicas podem estar relacionadas à virulência e à cronicidade da infecção o que pode ter impacto na clínica médica⁸.

A relevância clínica da ocorrência de polimorfismo celular é intrigante e há muito que se desvendar sobre a patogênese da criptococose causada por isolados contendo formas anômalas. Isto ressalta a importância de estudos sobre a biologia celular deste agente a fim de se valorizar estes achados durante a infecção.

Da mesma forma não se conhece o comportamento dos isolados polimórficos frente a fármacos utilizados no tratamento da criptococose e seu estudo poderia contribuir para desenvolvimento de ferramentas para auxiliar, ou prever, evolução clínica e direcionar melhor a terapia.

REFERÊNCIAS

1. Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, Govender N, Pappas PG, Chiller TM. 2009. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS* 2009; 23:525–530.
2. Lin X, Heitman J. The Biology of the *Cryptococcus neoformans* Species complex. *Annu. Rev. Microbiol.* 2006.60:69-105.
3. Papalardo MCSM, Melhem MSC. Cryptococcosis: a review of the Brazilian experience for the disease. *Rev Inst Med trop S Paulo.* 2003; 45: 299-305.
4. Bava J, Solari R, Isla G, Troncoso A. atypical forms of *Cryptococcus neoformans* in CSF of an AIDS patient. *J Infect Developing Countries* 2008; 2(5):403-405.
5. Neilson JB, Ivey MH, Bulmer GS *Cryptococcus neoformans*: Pseudohyphal forms surviving culture with *Acanthamoeba polyphaga*. *Infection And Immunity.*1978;Vol.20,1: 262-266.
6. Zaragoza O, Nielsen K. Titan cells in *Cryptococcus neoformans*: cells with a giant impact. *Curr Opin Microbiol.* 2013;16: 409–413.
7. Feldmesser M, Kress Y, Casadevall A. Dynamic changes in the morphology of *Cryptococcus neoformans* during murine pulmonary infection *Microbiology.* 2001; 147:2355–2365.
8. Bouklas T, Pechuan X, Goldman DL, Edelman B, Bergman A, Fries B C. Old *Cryptococcus neoformans* cells contribute to virulence in chronic cryptococcosis. 2013 ; *MBio*, 4 :4, e00455-13.