

MENINGITE CRIPTOCÓCICA EM PACIENTES HIV POSITIVOS TRATADOS COM DIFERENTES FORMULAÇÕES DE ANFOTERICINA B EM UM HOSPITAL DE INFECTOLOGIA EM GOIÁS

CRYPTOCOCCAL MENINGITIS IN HIV-POSITIVE PATIENTS TREATED WITH DIFFERENT FORMULATIONS OF AMPHOTERICIN B IN INFECTIOUS DISEASES HOSPITAL IN GOIÁS

Kamilla Falcão Barros dos Reis¹; João Marcus da Silva Gonçalves¹; Disley Xavier Rodrigues Dias²; Kátiuscia Nascimento Alves Ribeiro³; Maysa Aparecida de Oliveira⁴

RESUMO

Introdução: Descrever o perfil clínico e epidemiológico dos casos de pessoas vivendo com HIV (PVHIV) com diagnóstico de meningite criptocócica, confirmados laboratorialmente e tratados com as formulações lipídicas ou convencional de Anfotericina B (AmB), na fase de indução, atendidos no Hospital Referência em Infectologia e no Laboratório de Saúde Pública, em Goiás, no período de 2018 a 2022. **Metodologia:** Estudo transversal retrospectivo realizado a partir de dados secundários do Hospital Referência em Infectologia e do Laboratório de Saúde Pública. **Resultados:** Do total de pacientes notificados, 78 foram elegíveis para o estudo. Houve predominância do sexo masculino, da raça parda e a média de idade foi de 36,1 anos, sem associação significativa ao ano investigado ($p > 0,05$). A maioria (73,1%) possuía diagnóstico de HIV recente (<1 ano). A contagem de células CD4+ variou de 1 a 519 células/mm³ e a carga viral de não detectável a 4.269.798 cópias/mL. Quanto às espécies isoladas e identificadas na cultura, 81,5% eram *C. neoformans*. Em relação ao tratamento da fase de indução, 89,7% dos casos utilizaram d-AmB e 10,3% utilizaram d-AmB associada às formulações lipídicas. Nefrotoxicidade ($p < 0,05$) e hipomagnesemia ($p = 0,002$) foram associadas significativamente ao tratamento com d-AmB. **Conclusão:** Formulações lipídicas de AmB representam avanço significativo na terapia desta infecção fúngica potencialmente letal, principalmente em pacientes imunodeprimidos, como as PVHIV.

PALAVRAS-CHAVE: Criptococose; Meningite Criptocócica; HIV; Anfotericina B; Efeitos colaterais e reações adversas relacionados a medicamentos.

ABSTRACT

Objective: To describe the clinical and epidemiological profile of cases of people living with HIV (PLWHIV) diagnosed with cryptococcal meningitis, laboratory-confirmed and treated with lipid or conventional formulations of Amphotericin B (AmB), in the induction phase, attended at the Infectious Diseases Reference Hospital and the Public Health Laboratory, in Goiás, from 2018 to 2022. **Methodology:** Retrospective cross-sectional study based on secondary data from the Infectious Diseases Reference Hospital and the Public Health Laboratory. **Results:** Of the total number of patients notified, 78 were eligible for the study. There was a predominance of males, of brown race and the average age was 36.1 years, with no significant association with the year investigated ($p > 0.05$). The majority (73.1%) had a recent HIV diagnosis (<1 year). The CD4+ cell count ranged from 1 to 519 cells/mm³ and the viral load ranged from non-detectable to 4,269,798 copies/mL. As for the species isolated and identified in the culture, 81.5% were *C. neoformans*. Concerning treatment in the induction phase, 89.7% of the cases used d-AmB and 10.3% used d-AmB associated with lipid formulations. Nephrotoxicity ($p < 0.05$) and hypomagnesemia ($p = 0.002$) were significantly associated with d-AmB treatment. **Conclusion** Lipid formulations of AmB represent a significant advance in the therapy of this potentially lethal fungal infection, especially in immunosuppressed patients such as PLWHIV.

KEYWORDS: Cryptococcosis; Meningitis Cryptococcal; HIV; Amphotericin B; Drug-related side effects and adverse reactions.

INTRODUÇÃO

A criptococose é uma micose sistêmica causada por fungos do gênero *Cryptococcus* spp., com porta de entrada pulmonar e tropismo pelo Sistema Nervoso Central (SNC)¹. A infecção ocorre através da inalação de basidiósporos, considerados como prováveis propágulos infectantes, e leveduras desidratadas. A disseminação pulmonar da doença para outros órgãos pode ocorrer como resultado de uma infecção primária ou secundária².

Atualmente *Cryptococcus* spp. tem como agentes principais *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, que em virtude da diversidade genética passaram a ser considerados complexos de espécies. *C. neoformans* apresenta os sorotipos A, D e AD e tipos moleculares VNI, VNII, VNIII e VNIV e, mais recentemente, o tipo VNB. Já o *C. gattii* apresenta os sorotipos B e C, ambos com tipos moleculares VGI, VGII, VGIII e VGIV³. O *C. neoformans* é considerado um fungo patogênico oportunista, que tipicamente causa doença em hospedeiros imunodeprimidos, como os pacientes com diagnóstico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), disseminando-se por todo o organismo e apresentando alta mortalidade, enquanto *C. gattii* causa doença, predominantemente, em indivíduos imunocompetentes². A AIDS é o principal fator de risco para o desenvolvimento de meningite criptocócica e ocorre predominantemente em pacientes com contagem de células CD4+ abaixo de 100 células/mm³⁴.

A infecção criptocócica é de ocorrência mundial, entretanto, estudos sobre a distribuição global das espécies de *C. neoformans* e *C. gattii* revelam que a maioria dos casos ocorre na África e Ásia, seguidas da América Central e do Sul. O Brasil é o quarto país com maior número de isolados, ficando atrás da África do Sul, China e Estados Unidos³.

A taxa de letalidade da criptococose no Brasil é substancial, relatada na faixa de 45% a 65%. No país, estudos têm demonstrado a relevância da criptococose como principal micose associada ao óbito por AIDS e como segunda causa de mortalidade entre as micoses sistêmicas⁵.

A meningite e a meningoencefalite constituem as formas de apresentação mais frequentes e graves da criptococose com alta letalidade, em que a maioria dos óbitos ocorre nas primeiras duas semanas, em decorrência da hipertensão intracraniana¹. Os sinais e sintomas mais frequentes incluem cefaleia, febre, náuseas e vômitos, mal-estar, letargia, papiledema e rigidez de nuca. Nos casos mais graves, são observados aumento da pressão intracraniana, confusão mental, convulsão, perda visual ou auditiva, diminuição cognitiva, ataxia de marcha e paralisia do nervo craniano, além de coma^{1,2}.

O diagnóstico da meningite criptocócica é fundamentalmente baseado no exame do líquido que pode ser realizado por exame direto, cultura e testes diagnósticos imunológicos. Quase todos os casos de criptococose são diagnosticados pela visualização dos microrganismos através de espécimes clínicos adequados e/ou presença do antígeno criptocócico no soro ou líquido⁶.

O manejo da criptococose no SNC consiste em três aspectos fundamentais: manejo da hipertensão intracraniana, terapia antifúngica e manejo da síndrome inflamatória de reconstituição imune⁴. O objetivo do tratamento nas formas graves da criptococose é reduzir a carga fúngica por meio da associação de antifúngicos, principalmente nas duas primeiras semanas, período de maior risco de complicações, com a necessidade de internação em UTI e óbito¹. As opções terapêuticas variam de acordo com o estado imunológico do paciente e da forma clínica da criptococose e compreendem Anfotericina B desoxicolato (d-AmB) e suas formulações lipídicas, flucitosina e fluconazol. As duas formulações lipídicas de anfotericina B (AmB) disponíveis no Brasil são L-AmB (lipossomal) e ABLC (complexo lipídico)^{1,2,7}.

O tratamento da meningite criptocócica divide-se em três fases: indução, consolidação e manutenção. A fase de indução tem por objetivo a negatização ou redução efetiva da carga fúngica e o tratamento de escolha consiste em L-AmB ou ABLC e flucitosina pelo período mínimo de duas semanas. As formulações lipídicas são preferencialmente indicadas em substituição à d-AmB, pelos diversos e graves efeitos colaterais desencadeados por essa última. A fase de consolidação compreende manter a negatividade fúngica e a normalização de parâmetros clínicos e laboratoriais por, pelo menos, oito semanas com uso de fluconazol. A fase de manutenção é fornecida para pessoas vivendo com HIV (PVHIV) e recomenda-se fluconazol até a recuperação imunológica para prevenir recaídas, por pelo menos 12 meses e até que a contagem de células CD4+ seja igual ou maior a 100 células/mm³ e carga viral indetectável¹.

A AmB é considerada como terapia de escolha para o tratamento da meningite criptocócica, podendo também ser utilizada nas outras formas da criptococose, de administração venosa, requer monitorização laboratorial rotineira, devido ao seu elevado potencial para eventos adversos como reações infusionais, anemia, insuficiência renal, flebites e alteração de eletrólitos. Os efeitos adversos da d-AmB, especialmente a nefrotoxicidade, limitam seu uso de forma importante, pois trazem consequências significativas do ponto de vista de desfechos clínicos e custos hospitalares⁷.

A nefrotoxicidade está associada às diferentes afinidades da AmB pelas proteínas plasmáticas de baixa densidade (LDL) e alta densidade (HDL) responsáveis pelo transporte e consequente distribuição da AmB no organismo. A d-AmB tem maior afinidade por LDL, cujos receptores têm maior expressão nas células endoteliais do glomérulo renal. Consequentemente, a concentração de d-AmB nos rins é maior do que com o uso das formulações lipídicas, que apresentam maior afinidade por HDL. Portanto, as formulações lipídicas de AmB estão associadas a menor risco de nefrotoxicidade⁷.

As reações infusionais estão relacionadas ao efeito imunomodulador das diferentes formulações de AmB. A d-AmB apresenta ação pró-inflamatória, estimula a produção de citocinas inflamatórias, desencadeia liberação do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) e interleucina-1 (IL-1) das células do sistema imune. Por sua vez, TNF- α e IL-1 são

responsáveis pelas reações agudas infusionais (febre, calafrios, tremores musculares e hipotensão) comumente observadas após a administração de d-AmB⁴. L-AmB e ABLC apresentam efeito anti-inflamatório pela *down-regulation* na expressão gênica de citocinas inflamatórias em macrófagos. Com isso, a L-AmB apresenta menor chance de reações agudas infusionais, entretanto, a experiência clínica não demonstrou o mesmo para ABLC⁷.

A Secretaria de Vigilância em Saúde, a partir de março de 2022, por meio da Nota Informativa nº 5/2022-CGDR/DCCI/SVS/MS disponibilizou o ABLC para tratamento de pacientes com meningite criptocócica e demais formas de neurocriptococose e da mucormicose em PVHIV. De acordo com esse documento, o Ministério da Saúde (MS) é responsável por realizar a aquisição centralizada dos medicamentos ABLC e Flucitosina para o tratamento específico da meningite criptocócica e demais formas de neurocriptococose e da mucormicose em PVHIV⁸.

A criptococose não é uma doença de notificação compulsória no Brasil. Desta forma, é desconhecida a real magnitude do problema das micoses sistêmicas. Entretanto, de acordo com a Resolução Estadual nº 004/2013-GAB/SES-GO, a notificação da criptococose é obrigatória em Goiás desde 2013⁹, sendo realizada a partir da notificação da meningite, doença de notificação compulsória conforme Portaria nº 204/2016¹⁰. Após investigação dos casos de meningite notificados, os casos de meningite criptocócica são classificados como meningite de outra etiologia e, em seguida, são notificados e acompanhados por meio da ficha de notificação/conclusão.

O objetivo desse estudo foi descrever o perfil clínico e epidemiológico da meningite criptocócica em pacientes HIV positivos que realizaram tratamento com diferentes formulações de AmB em um Hospital Referência em Infectologia em Goiás.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal de caráter retrospectivo, realizado a partir de dados secundários, incluindo todos os casos de PVHIV com diagnóstico de meningite criptocócica, confirmados laboratorialmente e tratados com as formulações lipídicas ou convencional de AmB na fase de

indução, atendidos no Hospital Referência em Infectologia e no Laboratório de Saúde Pública, no período de 1º de janeiro de 2018 a 31 de dezembro de 2022. O hospital e o laboratório são, respectivamente, unidades de referência para tratamento e diagnóstico laboratorial dos casos de meningite criptocócica do estado de Goiás.

A triagem dos casos de meningite criptocócica foi realizada a partir das fichas de investigação de meningite obtidas no Núcleo Hospitalar de Vigilância Epidemiológica (NHVE) do Hospital Referência em Infectologia.

As variáveis do estudo foram obtidas no NHVE (sexo, idade e raça), nos prontuários médicos (tempo de internação, local de internação e desfecho), no laboratório do hospital (exame direto no líquido, aglutinação em látex e marcadores de função renal para avaliação da nefrotoxicidade) e na farmácia do hospital (formulações de AmB utilizadas, duração da terapia de indução, reações adversas e custo do tratamento).

Os dados sobre o ano do diagnóstico da infecção pelo HIV, carga viral e contagem de células CD4+ e cultura de fungos no líquido foram obtidos no Laboratório de Saúde Pública a partir do Sistema de Controle de Exames Laboratoriais da Rede Nacional de Contagem de Linfócitos CD4+/CD8+ e Carga Viral (SISCEL) e Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL).

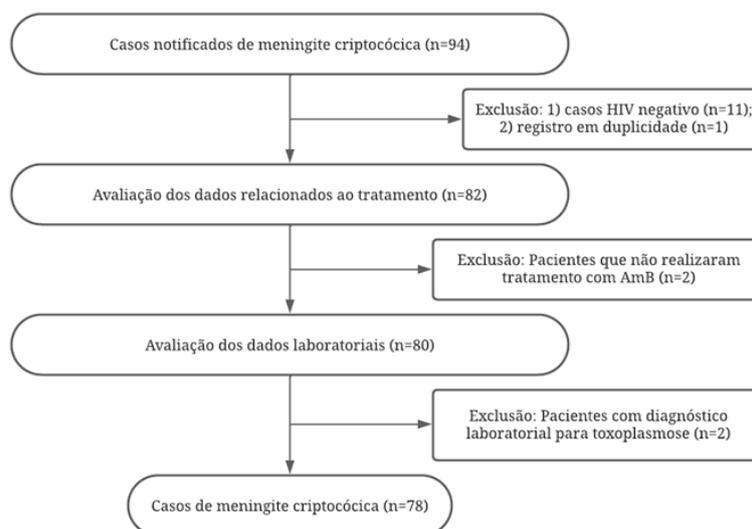
Os dados foram descritos sob a forma de frequências absoluta (n) e relativa (%). Associações estatísticas foram verificadas pelo teste exato de Fisher ($\alpha = 5\%$; $p < 0,050$). As análises dos dados foram realizadas no SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 20.

Este estudo seguiu as recomendações da Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad (CAAE: 67516523.6.0000.0034).

RESULTADOS

No período do estudo, foram notificados 94 pacientes com meningite criptocócica no NHVE. A partir dos critérios de inclusão, 78 pacientes foram elegíveis para o estudo (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma das etapas de busca e elegibilidade de registros.



Fonte: Os autores.

De acordo com a Tabela 1, observou-se que 88,5% (n=69) dos PVHIV acometidos por meningite criptocócica eram do sexo masculino e 74,4% (n=58) eram pardos. A distribuição da doença foi maior nos pacientes entre 28 a 37 anos (38,5%). A idade média dos pacientes foi de 36,1 ± 11,2 anos, variando

de 18 a 68 anos. Apesar da distribuição dos casos de criptococose ter sido prevalente entre homens, na raça parda e na faixa etária de 28 a 37 anos, não houve associação estatística (p>0,050).

Tabela 1. Perfil epidemiológico dos casos de meningite criptocócica em pacientes HIV positivos (n = 78), atendidos no Hospital Referência em Infectologia em Goiás, tratados com diferentes formulações de Anfotericina B.

Variáveis	2018		2019		2020		2021		2022		Total		p-valor*
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Sexo													
Feminino	4	5,1	1	1,3	0	0,0	2	2,6	2	2,6	9	11,5	0,719
Masculino	21	26,9	13	16,7	11	14,1	14	17,9	10	12,8	69	88,5	
Faixa etária													
18 - 27	5	6,4	6	7,7	2	2,6	4	5,1	3	3,8	20	25,6	0,597
28 - 37	8	10,3	4	5,1	8	10,3	6	7,7	4	5,1	30	38,5	
38 - 47	7	9,0	3	3,8	1	1,3	4	5,1	2	2,6	17	21,8	
48 - 57	4	5,1	0	0,0	0	0,0	2	2,6	1	1,3	7	9,0	
58 - 68	1	1,3	1	1,3	0	0,0	0	0,0	2	2,6	4	5,1	
Raça													
Amarela	2	2,6	2	2,6	1	1,3	0	0,0	1	1,3	6	7,7	0,258
Branca	2	2,6	2	2,6	0	0,0	1	1,3	2	2,6	7	9,0	
Parda	19	24,4	10	12,8	10	12,8	10	12,8	9	11,5	58	74,4	
Preta	2	2,6	0	0,0	0	0,0	1	1,3	0	0,0	3	3,8	
Ignorado	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	5,1	0	0,0	4	5,1	

Legenda: *Teste exato de Fisher.

Fonte: Os autores.

Dos 78 casos, 73,1% possuíam diagnóstico de HIV recente (<1 ano). A contagem de células CD4+ variou de 1 a 519 células/mm³ (média 28 células/mm³) e, em 75,6% dos casos, o resultado estava abaixo de 100 células/mm³. A carga viral variou de não detectável a 4.269.798 cópias/mL (média 284.578 cópias/mL) e 26,9% dos casos estavam acima de 500.000 cópias/mL (Tabela 2).

Quanto às espécies isoladas e identificadas na cultura, 81,6% eram *C. neoformans* (Tabela 2). A confirmação laboratorial foi estabelecida a partir do exame direto do líquido com coloração pela tinta da China, em que 84,6% (n=66) foram positivas, podendo esse exame ser realizado imediatamente após a coleta da punção lombar. Adicionalmente, foi realizado teste de aglutinação em látex em 61,5% (n=48) dos casos, com

resultado reagente em 60,2% (n=47) dos casos. A cultura, realizada concomitantemente com o exame direto para confirmação e diferenciação de espécie, foi positiva em 97,4% (n=76) e negativa em 2,6%, (n=2) dos casos.

O tempo de internação variou de 2 a 107 dias com mediana de 33 dias (Tabela 3). Observou-se que 59,0% (n=46) dos pacientes ficaram internados em enfermarias entre 2 a 107 dias, com mediana de 29 dias, e 41,0% (n=32) necessitaram de internação em UTI, com período de internação de 2 a 51 dias e mediana de 7 dias (Tabela 2). Não houve associação significativa entre tratamento (uso de d-AmB ou d-AmB associada às formulações lipídicas de AmB) e tempo de internação (p=0,333).

Tabela 2. Características clínicas e laboratoriais dos casos de meningite criptocócica em pacientes HIV positivos (n = 78), atendidos no Hospital Referência em Infectologia em Goiás, tratados com diferentes formulações de Anfotericina B.

Variáveis	n	%
Internação		
Enfermaria	46	59,0
Enfermaria e UTI	18	23,1
UTI	14	17,9
Carga Viral (cópias/mL)		
<50 (indetectável)	8	10,3
50 a 10.000	7	9,0
10.001 a 100.00	15	19,2
100.001 a 499.00	18	23,1
>500.000	21	26,9

Não realizado	9	11,5
Contagem de CD4 (células/mm³)		
<100	59	75,6
100 a 499	10	12,8
>500	1	1,3
Tempo de diagnóstico da infecção pelo HIV		
< 1 ano	57	73,1
1 a 4 anos	9	11,5
5 a 8 anos	6	7,7
9 a 12 anos	4	5,1
13 a 16 anos	2	2,6
Exame direto (Tinta da china)		
Negativo	12	15,4
Positivo	66	84,6
Aglutinação de Látex		
Não realizado	30	38,5
Não reagente	1	1,3
Reagente	47	60,2
Cultura		
Negativo	2	2,6
Positivo	76	97,4
Agente etiológico		
<i>Cryptococcus neoformans</i>	62	81,6
<i>Cryptococcus spp.</i>	14	18,4

Fonte: Próprios autores.

Em relação ao tratamento com as formulações de AmB durante a fase de indução (Tabela 3), 89,7% (n=70) dos casos utilizaram d-AmB, 1,3% (n=1) utilizou d-AmB associada à L-AmB e 9,0% (n=7) utilizaram d-AmB associada à ABLC.

Do total de casos avaliados, 30,8% (n=24) dos pacientes utilizaram AmB por 14 dias, mas em 6,4% (n=5), a duração do tratamento da fase de indução estendeu-se até 55 dias. Em relação à negatificação da cultura, 41,0% (n=32) ocorreram entre 15 e 28 dias. Sobre a evolução clínica, 52,6% (n=41) receberam alta hospitalar, 1,3% (n=1) evoluiu a óbito em decorrência da meningite criptocócica e 46,1% (n=36) evoluíram a óbito por outras causas (Tabela 3). Destaca-se que

independente da causa, a maioria dos óbitos ocorreu entre os pacientes que usaram d-AmB (n=36). Entretanto, não houve associação significativa entre o tratamento empregado e duração do tratamento, monitoramento da cultura e desfecho clínico ($p>0,05$).

As reações adversas, com exceção da cefaleia, foram mais observadas entre os pacientes que usaram d-AmB e as mais frequentes foram nefrotoxicidade (26,9%), hipomagnesemia (24,4%) e hipocalcemia (23,1%). Entretanto, apenas nefrotoxicidade ($p<0,05$) e hipomagnesemia ($p=0,002$) foram associadas significativamente ao tratamento com d-AmB (Tabela 3).

Tabela 3. Características do tratamento da criptococose, na fase de indução, com diferentes formulações Anfotericina B, dos pacientes HIV positivos (n = 78) atendidos no Hospital Referência em Infectologia em Goiás.

Variáveis	Total		d-AmB (n=70)		d-AmB + Formulações lipídicas de AmB (n=8)		p-valor*
	n	%	n	%	n	%	
Tempo de internação (dias)							
jan/14	19	24,4	19	100	0	0	0,333
15 - 28	15	19,2	13	86,7	2	13,3	
29 - 42	21	26,9	18	85,7	3	14,3	
43 - 56	12	15,4	11	91,7	1	8,3	
57 - 70	6	7,7	5	83,3	1	16,7	
71 - 84	3	3,8	2	66,7	1	33,3	
99 - 107	2	2,6	2	100	0	0	
Monitoramento da cultura (dias)							
jan/14	14	17,9	11	78,6	3	21,4	0,439
15 - 28	32	41	29	90,6	3	9,4	

29 - 40	10	12,8	8	80	2	20	
Duração do tratamento (dias)							
jan/14	24	30,8	24	100	0	0	0,149
15 - 28	24	30,8	21	87,5	3	12,5	
29 - 42	25	32	21	84	4	16	
43 - 55	5	6,4	4	80	1	20	
Reações adversas							
Cefaleia	2	2,6	1	50	1	50	0,196
Calafrios	3	3,8	3	100	0	0	0,72
Febre	4	5,1	3	75	1	25	0,357
Hipocalemia	18	23,1	16	88,9	2	11,1	0,594
Hipomagnesemia	19	24,4	13	68,4	6	31,6	0,002
Mal estar	2	2,6	2	100	0	0	0,804
Náuseas	12	15,4	10	83,3	2	16,7	0,601
Vômitos	10	12,8	9	90	1	10	0,729
Nefrotoxicidade	21	26,9	13	61,9	8	38,1	<0,050
Leucopenia	2	2,6	2	100	0	0	0,804
Pancitopenia	3	3,8	2	66,7	1	33,3	0,28
Desfecho clínico							
Alta	41	52,6	34	82,9	7	17,1	0,157
Óbito por meningite	1	1,3	1	100	0	0	
Óbito por outra causa	36	46,1	35	97,2	1	2,8	

Legenda: *Teste exato de Fisher.

Fonte: Os autores.

Tabela 4. Custos do tratamento com formulações de Anfotericina B (AmB).

Variáveis	AmB desoxicolato	AmB lipossomal	Complexo lipídico de AmB
Custo médio unitário (R\$)	22,7 ± 4,1	98,6 ± 4,4	876,0 ± 458,20
Apresentação	Frasco 50 mg	Frasco 50 mg	Frasco 100 mg
Dose	1mg/Kg/dia	3mg/Kg/dia a 5mg/Kg/dia	5mg/Kg/dia

Fonte: Os autores.

De acordo com os dados fornecidos pelo hospital de referência em infectologia, os custos do tratamento com as formulações de AmB são apresentados na Tabela 4.

DISCUSSÃO

A maior prevalência da doença entre pacientes do sexo masculino, na faixa etária de 28 a 47 anos e na raça parda, encontrada neste estudo, pode ter relação com o perfil epidemiológico do HIV e da AIDS. Em Goiás, entre 2018 e 2022, período do estudo, a distribuição dos casos de HIV foi mais frequente no sexo masculino, na faixa etária de 20 a 29 anos e na raça parda. Perfil semelhante foi observado para a AIDS, exceto em relação à idade, na qual a distribuição dos casos foi maior na faixa etária de 30 a 39 anos (2018 a 2020) e de 20 a 29 anos (2021 e 2022). Verificou-se leve queda no número de casos de HIV e AIDS em 2020, entretanto constatou-se estabilidade na ocorrência de novos casos nos demais anos¹¹.

A prevalência da doença no sexo masculino pode ser explicada, em parte, pela maior prevalência de HIV/AIDS nesse grupo, no qual a criptococose se caracteriza como condição oportunista e, em alguns casos, doença definidora de AIDS. A meningite criptocócica pode acometer ambos os sexos, mas nos homens sua prevalência gira em torno de 70%, e nas mulheres, é de 30%, com razões ainda pouco claras. É

possível que os hormônios femininos tenham um papel importante na defesa do organismo contra o *Cryptococcus* spp.. Em estudos realizados com ratos, as fêmeas infectadas pelo *C. neoformans* apresentaram níveis mais altos de TNF- α e IFN- γ no baço e no sangue em relação aos machos¹².

Alguns estudos descreveram perfil epidemiológico parecido ao encontrado neste estudo. Ianiski et al.¹³ avaliaram 46 prontuários clínicos de pacientes diagnosticados com criptococose, em um hospital universitário do Rio Grande do Sul, e observaram que o sexo masculino, etnia branca, faixa etária de 31 a 50 anos e portadores do HIV foram predominantes. Fontinele et al.¹⁴ traçaram o perfil dos pacientes acometidos com infecção por *Cryptococcus*, em um hospital de doenças tropicais em Teresina/PI, e observaram que 52,5% (n=21) eram do sexo masculino, 57,5% (n=23) eram pardos e a idade média geral era de 37,6 anos.

Observou-se que a maioria dos pacientes obteve o diagnóstico da infecção pelo HIV no momento do diagnóstico da criptococose. Esses achados podem indicar diagnóstico tardio da infecção pelo HIV, confirmado pelos baixos valores de células CD4+ e altos valores de carga viral do grupo avaliado. Neste estudo observou-se que em 75,6% dos casos, os resultados de células CD4+ estavam abaixo de 100 células/mm³. Dados semelhantes foram encontrados por Ianisky et al.¹³, em que 66,67% (26/39) dos pacientes

diagnosticados com criptococose apresentavam contagem de células CD4+ <100 células/mm³. Pacientes com AIDS são propensos a adquirirem infecções oportunistas e a desenvolverem as formas mais graves dessas doenças. A meningite criptocócica apresenta estreita relação com o HIV/AIDS, uma vez que a AIDS leva a um imunocomprometimento⁴.

Foram observados alguns aspectos relacionados às complicações da doença, como a necessidade de internação em UTI e o óbito. Casos graves de criptococose estão relacionados ao rebaixamento do nível de consciência que traduz intimamente maior grau de comprometimento encefálico associado à hipertensão intracraniana, alterações eletrolíticas e outras agressões resultantes do efeito tóxico direto do fungo no SNC ou da resposta inflamatória por ele induzida¹⁵.

Neste estudo, o método mais utilizado para o diagnóstico laboratorial foi o exame direto, que consiste na observação microscópica da amostra biológica, em que são visualizadas leveduras arredondadas ou ovais, geralmente apresentando brotamento único, envoltas por cápsula polissacarídica, evidente quando analisadas em preparações com tinta da China (tinta Nanquim ou tinta da Índia). A microscopia é um excelente recurso diagnóstico uma vez que há abundância de elementos fúngicos em materiais clínicos na criptococose e por ser o método que apresenta resultado mais rápido⁶. Em certos casos, ao analisar o líquido, pode-se obter um resultado negativo devido à baixa carga viável.

A cultura, considerada o exame padrão ouro para confirmação da doença, foi realizada em todos os casos, sendo positiva em 97,4% das amostras avaliadas. O cultivo em laboratório é simples, pois o fungo se desenvolve facilmente em ágar Sabouraud (ASD) sem cicloheximida e também no ágar semente de niger formando colônias lisas ou mucoides de cor creme. O crescimento das colônias ocorre entre 48 a 72 horas em temperatura entre 25° a 37° C. A cultura só deve ser descartada como negativa após 30 dias de incubação⁶. Conforme o último Consenso Brasileiro de Criptococose, se coletada adequadamente, a cultura apresenta sensibilidade em 89% dos pacientes não infectados pelo HIV e em 95% a 100% dos pacientes com AIDS².

A partir da cultura da amostra clínica em ASD, após o isolamento da levedura, segue-se com a identificação fenotípica das espécies dos complexos *C. neoformans/C. gattii*. Testes bioquímicos são utilizados, como o meio L-canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB), que distingue *C. gattii* por sua capacidade de assimilar glicina como única fonte de carbono e nitrogênio e não ser inibido pela canavanina, observando-se crescimento no meio de cultura, mudança do pH e alteração da cor para azul cobalto, resultando em CGB positivo. Por outro lado, *C. neoformans* não cresce no meio, mantém a cor original, resultando em CGB negativo. Na prova da ureia, a mesma é hidrolisada pela urease, enzima produzida pela levedura do gênero *Cryptococcus*, resultando em mudança de coloração do meio de amarelo para rosa intenso. As espécies *C. neoformans* e *C. gattii* são as únicas do gênero que podem produzir melanina

a partir da enzima fenoloxidase, apresentando coloração marrom em meios de cultura com extratos de batata, cenoura ou extratos de sementes de Níger, devido à presença, nestes meios, de tirosina e ácido clorogênico que são oxidados pela fenoloxidase produzida pela levedura¹⁶.

Além da identificação fenotípica por meio de provas bioquímicas, técnicas automatizadas são utilizadas na rotina do laboratório. A identificação automatizada através do *Vitek®2 Compact*, por exemplo, é realizada a partir da inoculação da suspensão de fungos em cartões de identificação que contêm substratos para medir diferentes atividades metabólicas, como acidificação, alcalinização e hidrólise enzimática, e o crescimento microbiano na presença de certas substâncias. Para isso é utilizado um sistema ótico que utiliza diferentes comprimentos de onda na zona do espectro visível para realizar leituras turbidimétricas e colorimétricas¹⁷. A identificação através dos padrões moleculares é baseada na técnica MALDI-TOF (*Vitek® MS*), do inglês, ionização e dessorção a laser assistida por matriz e analisador de tempo de voo. A técnica MALDI-TOF utiliza princípios físicos e químicos para obter informações dos componentes proteicos da amostra em um espectrômetro de massa, cruzando essas informações obtidas no equipamento com um banco de dados, podendo assim determinar desde o gênero até o genótipo da amostra em questão¹⁸.

O *C. neoformans* foi o principal agente causador da criptococose, sendo 18,4% dos casos identificados somente por *Cryptococcus* spp., por falta de insumos para diferenciação de espécies. Nesta investigação, o teste de aglutinação de látex, que detecta o antígeno capsular polissacarídeo de *Cryptococcus*, foi realizado adicionalmente ao exame direto, com resultado positivo em 47 dos 48 testes realizados. Resultados falso-negativos podem acontecer em situações em que há excesso de antígeno, nomeadamente efeito pós-zona. Resultados falso-positivos ocorrem em pouquíssimas ocasiões, tais como, nos casos de reações cruzadas com outros microrganismos e com o fator reumatoide⁶.

Atualmente, a Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza o uso da pesquisa do antígeno do *Cryptococcus* (CrAg) por imunocromatografia como método de rastreamento da doença em pacientes com AIDS que possuem contagem de linfócitos CD4+ <100 células/mm³¹⁹. Desde 2017, o teste imunocromatográfico de fluxo lateral de antígeno criptocócico – *cryptococcal antigen lateral flow assay* – (CrAg-LFA) está disponível no Brasil, embora ainda não disponibilizado pelo Sistema Único de Saúde (SUS). O CrAg-LFA pode servir como uma ferramenta de rastreio para a doença criptocócica, e sua utilização como triagem em pacientes com CD4+ <100 células/mm³ possui considerável importância para o diagnóstico da criptococose em regiões com limitações laboratoriais, visto que esse exame é de fácil execução, barato e mais simples, em relação ao teste de aglutinação, por ser *point of care*, sem necessidade de equipamentos de laboratório ou expertise técnica, o que o torna ideal para regiões com recursos limitados¹.

O guia de vigilância em saúde do MS recomenda o manejo da criptococose com terapia de indução com AmB associada à

flucitosina ou fluconazol por, pelo menos, duas semanas, e continuidade do fluconazol nas fases de consolidação e manutenção¹. Ressalta-se que esse estudo avaliou somente o uso das formulações da AmB na fase de indução. A flucitosina foi incorporada ao SUS em maio de 2021, após recomendação favorável da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias (CONITEC) para o tratamento de pacientes com meningite criptocócica e demais formas de neurocriptococose, conforme estabelecido pelo MS, por meio da Portaria SCTIE/MS nº 21, de 28 de maio de 2021²⁰, e incluída na Lista Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) em 2022 na concentração de 250 e 500 mg cápsulas, fazendo parte do componente estratégico de financiamento da Assistência Farmacêutica. Entretanto, a flucitosina não se encontrava disponível até a redação desse artigo, pois estava em processo de aquisição pelo MS. Em relação ao uso do ABLC, entende-se que a nota informativa nº 5/2022-CGDR/DCCI/SVS/MS⁸ foi uma forma de facilitar o acesso das PVHIV com micoses sistêmicas a esse medicamento, entretanto em abril de 2022, por meio da Nota Técnica Conjunta nº 3/2022, o MS informou a indisponibilidade temporária do ABLC para o tratamento de micoses endêmicas, devido a problemas em seu processo de fabricação²¹. Após um período de desabastecimento, foi disponibilizado o ABLC suspensão injetável estéril, 5 mg/mL, frasco-ampola de 10 mL, exclusiva para administração endovenosa.

Nesse estudo, a fase de indução foi tratada com d-AmB ou d-AmB associada às formulações lipídicas. Entre 2018 e 2021, ABLC foi utilizada por 4 pacientes e, em 2022, a L-AmB por 1 paciente, devido ao remanejamento do medicamento de outros pacientes que o utilizavam para outras patologias. Após nota informativa, em 2022, ABLC foi disponibilizada para 3 pacientes em decorrência da nefrotoxicidade observada após o uso de d-AmB, justificando, assim, sua aquisição. Em 2022, a OMS realizou uma reunião para o desenvolvimento de diretrizes para considerar a inclusão de um regime único baseado em anfotericina B lipossomal em altas doses (10mg/kg) com 14 dias de flucitosina e fluconazol. Contudo, os regimes alternativos anteriormente recomendados pelo guia de vigilância em saúde do MS permanecem válidos¹⁹.

O tratamento com d-AmB determinou maior tempo de internação em relação ao tratamento com as formulações lipídicas nesse estudo. Ullmann et al.²² confirmou que, nos hospitais europeus, as formulações de AmB têm grande influência no tempo de internação hospitalar. Os pacientes que desenvolveram insuficiência renal na coorte permaneceram mais tempo (nove dias a mais) no hospital do que o grupo que não apresentou nefrotoxicidade associada ao tratamento com AmB, além disso a nefrotoxicidade grave esteve relacionada com a mortalidade²².

A duração do tratamento da fase de indução da meningite ou meningoencefalite deve ser ajustada caso a caso, em função da avaliação clínica, líquórica e radiológica no final da segunda semana. Nos casos mais graves, recomenda-se um tempo de tratamento mínimo de um mês. Esquemas superiores a duas semanas devem ser considerados em

indivíduos que persistem com rebaixamento do nível de consciência, apresentam deterioração clínica e/ou mantêm hipertensão intracraniana, preferencialmente sintomática, que apresentaram cultura positiva ou elevada probabilidade desse resultado em amostra de líquido obtida após duas semanas de tratamento de indução¹. Neste estudo, a fase de indução foi de no mínimo 14 dias, com menor duração para aqueles pacientes que evoluíram para óbito logo no início do tratamento (n=21). O tempo prolongado de tratamento pode ser justificado pelo tempo demandado para negatização/redução da carga fúngica observado no estudo e devido ao fato da meningite ser considerada uma doença grave. O tempo de monitoramento da cultura consistiu no intervalo entre a primeira cultura positiva até a primeira cultura negativa, que tem seu resultado liberado apenas após 30 dias de incubação confirmando a negatização. Esse tempo, deve-se ao fato dos fungos dimórficos, como *Paracoccidioides brasiliensis* e *Histoplasma capsulatum*, apresentarem crescimento lento (15 a 30 dias)²³.

Este estudo mostrou que foram frequentes as reações adversas associadas à infusão de AmB como febre, náuseas, vômito e calafrios, enquanto as reações mais marcantes observadas durante o tratamento foram: nefrotoxicidade, alterações de potássio (hipocalemia) e magnésio (hipomagnesemia). Resultados semelhantes foram observados no estudo de Loução et al.²⁴, em que, entre as reações agudas, as mais frequentes relacionadas à infusão do fármaco foram vômito, náusea, flebite, hipertermia e cefaleia. Quanto às reações subagudas, as mais frequentes foram elevação de ureia e de creatinina e hipocalemia. A d-AmB apresenta potencial de nefrotoxicidade, alterações hidroeletrólíticas e anemia. PVHIV em programação de uso de terapia de indução devem receber um pacote mínimo de medidas para a prevenção, o monitoramento e o manejo da toxicidade e inclui hidratação e suplementação de eletrólitos durante o tratamento antifúngico e o monitoramento laboratorial com hemograma, transaminases, creatinina, ureia e eletrólitos (potássio e magnésio), pelo menos duas vezes por semana¹.

Os custos do tratamento com as formulações lipídicas de AmB aumentam consideravelmente em relação ao uso de d-AmB. Os valores são influenciados pelo preço de aquisição dos medicamentos, que é realizada via MS. No período avaliado, a d-AmB custava em média de R\$ 22,7, a ABLC em torno de R\$ 876,0 e a L-AmB R\$ 98,6. Neste estudo observou-se que as formulações lipídicas, apesar de mais onerosas, apresentaram maiores probabilidades de alta e menores probabilidades de reações adversas, como nefrotoxicidade, hipomagnesemia e hipocalemia, ou seja, melhor perfil de efetividade e segurança do que a convencional.

Este estudo apresentou algumas limitações por tratar-se de um estudo retrospectivo no qual existe o risco de perda de dados em prontuários, bem como do seguimento de pacientes e a ocorrência de subnotificações. Outra limitação encontrada foi o curto período de tempo de observação após a implementação da nota técnica de liberação da AmB complexo lipídico para PVHIV com micoses sistêmicas. Seria

necessário um tempo de estudo maior para avaliar o impacto desse tratamento na doença criptocócica.

CONCLUSÃO

A criptococose é a principal infecção fúngica com altos índices de mortalidade em todo o mundo, em especial a forma meningite criptocócica em pacientes imunodeprimidos como as PVHIV. O diagnóstico precoce da infecção pelo HIV é importante, uma vez que grande parte dos casos observados nesse estudo estava em estágio avançado da AIDS.

A utilização de formulações lipídicas de AmB no tratamento da meningite criptocócica representa um avanço significativo na terapia desta infecção fúngica potencialmente letal. Elas oferecem redução notável da toxicidade, permitindo doses mais elevadas e, assim, aumentando a eficácia do tratamento.

AFILIAÇÃO

1. Residente do Programa de Residência em Área Profissional da Saúde, Atenção Clínica Especializada, Modalidade Multiprofissional, Área de Concentração em Infectologia, sediado no Hospital Estadual de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad e no Laboratório Estadual de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros, Secretaria de Estado da Saúde de Goiás. Avenida Contorno n° 3556, Jardim Bela Vista, CEP 74.850-400, Goiânia, Goiás, Brasil. kamillafalcaobarros@gmail.com
2. Farmacêutica Bioquímica pela Universidade Paulista, Especialista em Auditoria e Regulação em Serviços de Saúde pela Faculdade Delta. Farmacêutica no Laboratório Estadual de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros. Avenida Contorno n° 3556, Jardim Bela Vista, CEP 74.850-400, Goiânia, Goiás, Brasil.
3. Farmacêutica Bioquímica pela Faculdade Objetivo, Especialista em Farmácia Clínica e Prescrição Farmacêutica pelo Instituto de Ciência, Tecnologia e Qualidade – ICTQ, Especialista em Atenção Farmacêutica pelo Instituto de Pós-Graduação e Graduação – IPOG, Mestre em Saúde Pública pela Universidade Federal de Goiás. Farmacêutica no Hospital Estadual de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad. Avenida Contorno n° 3556, Jardim Bela Vista, CEP 74.853-120, Goiânia, Goiás, Brasil.
4. Farmacêutica, Habilitada em Farmácia Industrial, Especialista em Farmacologia, Mestre em Química e Doutora em Ciências da Saúde pela Universidade Federal de Goiás. Farmacêutica no Laboratório Estadual de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros. Tutora de Farmácia no Programa de Residência em Área Profissional da Saúde, Atenção Clínica Especializada, Modalidade Multiprofissional, Área de Concentração em Infectologia, sediado no Hospital Estadual de Doenças Tropicais Dr. Anuar Auad e no Laboratório Estadual de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros, Secretaria de Estado da Saúde de Goiás. Avenida Contorno n° 3556, Jardim Bela Vista, CEP 74.853-120, Goiânia, Goiás, Brasil.

ACESSO ABERTO



Este artigo está licenciado sob Creative Commons Attribution 4.0 International License, que permite o uso, compartilhamento, adaptação, distribuição e reprodução em qualquer meio ou formato, desde que você dê crédito apropriado ao(s) autor(es) original(is) e à fonte, forneça um *link* para o Creative Licença Commons e indique se foram feitas alterações. Para mais informações, visite o site creativecommons.org/licenses/by/4.0/

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância em saúde: volume 2 [Internet]. 6 ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2023 [citado em 10 Out 2023]. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_v2_6ed.pdf

Além disso, essas formulações demonstram ser uma opção valiosa em pacientes com condições subjacentes que tornam o uso de AmB convencional inviável devido aos efeitos adversos.

Embora a criptococose não seja uma doença de notificação compulsória no Brasil, em Goiás, as micoses sistêmicas foram incluídas na lista de doenças de notificação compulsória estadual de acordo com a Resolução 004/2013-GAB/SES-GO. Em virtude de sua gravidade e mortalidade, a criptococose é um problema de saúde pública e deveria ser incluída na Lista Nacional de Doenças de Notificação Compulsória para melhor compreensão do seu processo saúde/doença e desenho epidemiológico nacional. Dessa forma, gestores teriam subsídios para elaboração de políticas públicas eficazes e eficientes.

2. Kon SA, Grumach AS, Colombo AL, Penalva ACO, Wanke B, Telles FQ, et al. Consenso em criptococose: 2008. Rev Soc Bras Med Trop [Internet]. 2008 [citado em 10 Out 2023]; 41(5):524-44. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822008000500022>.
3. Cogliati M. Global molecular epidemiology of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*: an atlas of the molecular types. Scientifica (Cairo). 2013:675213.
4. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2018 [citado em 15 Out 2023]. Disponível em: https://www.gov.br/aids/pt-br/central-de-conteudo/pcdts/2013/hiv-aids/pcdt_manejo_adulto_2_2018_web.pdf/view.
5. Soares EA, Lazera MS, Wanke B, Ferreira MF, Oliveira RVC, Oliveira AG, et al. Mortality by cryptococcosis in Brazil from 2000 to 2012: a descriptive epidemiological study. PLoS Negl Trop Dis. 2019;13(7):e0007569.
6. Silveira MB, Moura AM, Sousa IC, Rezende HAA. Diagnóstico laboratorial de criptococose em indivíduos imunodeprimidos. Saúde & Ciência em Ação. 2018 Jan-Jul;4(1):103-116.
7. Falci DR, Pasqualotto AC. Anfotericina B: uma revisão sobre suas diferentes formulações, efeitos adversos e toxicidade. Clin Biomed Res [Internet]. 15 Jul 2015 [citado em 19 Out 2023]; 35(2). Disponível em: <https://seer.ufrgs.br/index.php/hcpa/article/view/56021>.
8. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota Informativa n° 5/2022-CGDR/DCCI/SVS/MS. Disponibilidade do complexo lipídico de Anfotericina B para tratamento de pacientes com meningite criptocócica e demais formas de neurocriptococose e da mucormicose em pessoas vivendo com o HIV (PVHIV) [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2022 [citado em 20 Out 2023]. Disponível em: https://antigo.aids.gov.br/sites/default/files/media/pagina/2022/68448/_sei_ms_-_0025416014_-_nota_informativa_complexo_lipidico_pvhiv.pdf.
9. Secretaria de Estado da Saúde (GO). Resolução n° 004/2013/GAB-SES. Acrescenta agravos de interesse à saúde no elenco de Doenças de Notificação Compulsória e dá outras providências. Diário Oficial do Estado de Goiás, Goiás, GO, ano 176, n. 24.588. p. 20. 14 Maio 2013.
10. Ministério da Saúde (BR). Portaria no 204, de 17 de fevereiro de 2016. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 32, p. 23-24. 18 Feb 2016.
11. Secretaria de Estado da Saúde (GO). IST Infecções Sexualmente Transmissíveis [Internet]. Goiânia: Secretaria de Estado da Saúde; 2024. Disponível em: <https://indicadores.saude.go.gov.br/public/ist.html>

12. Lortholary O, Improvisi L, Fitting C, Cavaiillon JM, Dromer F. Influence of gender and age on course of infection and cytokine responses in mice with disseminated *Cryptococcus neoformans* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2002 Jan;8(1):31-7.
13. Ianiski LB, Azevedo MI, Weiblen C, Stibbe PC, Tondolo JSM, Botton SA. Perfil epidemiológico e terapêutico de pacientes com criptococose atendidos em hospital escola de Santa Maria/RS. *Saúde (Sta. Maria)* [Internet]. 2018 [citado em 19 Out 2023]; 44(2). Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/revistasauade/article/view/32507>.
14. Fontinele DRS, Nunes RS, Silva LHC, Martins LMS, Wanke B. Análise clínica e epidemiológica da infecção por criptococose em pacientes do hospital de referência em doenças tropicais de Teresina, Brasil. *RBPS* [Internet]. 6 Mar 2023 [citado em 05 Out 2023];24(2):25-34. Disponível em: <https://periodicos.ufes.br/rbps/article/view/36612>.
15. Batista AVM, Souza NM, Sacramento E. Quimiotipagem e caracterização fenotípica de *Cryptococcus* isolados em Belém, Estado do Pará, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude* [Internet]. Dez 2010 [citado em 19 Out 2023];1(4):43-49. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S217662232010000400007&lng=pt.
16. Gomes FS, Sarmiento DN, Santos EPTE, Silva SHM. Quimiotipagem e caracterização fenotípica de *Cryptococcus* isolados em Belém, Estado do Pará, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude* [Internet]. 2010 [citado em 10 Out 2023];1(4):43-49. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S217662232010000400007&lng=pt.
17. Pincus DH. Microbial identification using the Biomerieux VITEK 2 System. *Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods*. 2013. p. 1-32.
18. Zvezdanova ME, Arroyo MJ, Méndez G, Guinea J, Mancera L, Muñoz P, Rodríguez-Sánchez B, Escribano P. Implementation of MALDI-TOF Mass Spectrometry and Peak Analysis: application to the discrimination of *Cryptococcus neoformans* species complex and their interspecies hybrids. *J Fungi (Basel)*. 2020;6(4):330.
19. World Health Organization. Guidelines for diagnosing, preventing and managing cryptococcal disease among adults, adolescents and children living with HIV [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK581832/>.
20. Ministério da Saúde (BR). Portaria SCTIE/MS nº 21, de 28 de maio de 2021. Torna pública a decisão de incorporar, no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS, a flucitossina para o tratamento de pacientes com meningite criptocócica e demais formas de neurocriptococose, conforme estabelecido pelo Ministério da Saúde. *Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, ed. 113, p. 118*. 02 Jun 2021.
21. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota técnica conjunta nº 3/2022. Indisponibilidade temporária do medicamento complexo lipídico de anfotericina B, para tratamento de micoses endêmicas. Brasília: Ministério da Saúde; 2022.
22. Ullmann AJ, Sanz MA, Tramarin A, Barnes RA, Wu W, Gerlach BA, Krobot KJ, Gerth WC; Longitudinal Evaluation of Antifungal Drugs (LEAD I) Investigators. Prospective study of amphotericin B formulations in immunocompromised patients in 4 European countries. *Clin Infect Dis*. 2006;43(4):e29-38.
23. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde. Módulo 8: detecção e identificação de fungos de importância médica. Brasília: Anvisa; 2013.