

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA HISTOPLASMOSE E  
CRIOCOCOSE NA REGIÃO METROPOLITANA DE PORTO ALEGRE: UM  
ESTUDO DE COORTE EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS**

SIDNEI ALVES DOS SANTOS JÚNIOR

Porto Alegre

2019

CIP - Catalogação na Publicação

SANTOS JÚNIOR, SIDNEI ALVES DOS  
PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA HISTOPLASMOSE E  
CRÍPTOCOCOSE NA REGIÃO METROPOLITANA DE PORTO ALEGRE:  
UM ESTUDO DE COORTE EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS /  
SIDNEI ALVES DOS SANTOS JÚNIOR. -- 2019.  
82 f.  
Orientador: DIEGO RODRIGUES FALCI.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto  
Alegre, BR-RS, 2019.

1. HIV/AIDS. 2. DOENÇAS OPORTUNISTAS. 3.  
CRÍPTOCOCOSE. 4. HISTOPLASMOSE. I. FALCI, DIEGO  
RODRIGUES, orient. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA HISTOPLASMOSE E  
CRIOCOCOSE NA REGIÃO METROPOLITANA DE PORTO ALEGRE: UM  
ESTUDO DE COORTE EM PESSOAS VIVENDO COM HIV/AIDS**

SIDNEI ALVES DOS SANTOS JÚNIOR

Orientador: Prof. Dr. Diego Rodrigues Falci

Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre em Medicina:  
Ciências Médicas, da Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Programa de Pós-  
Graduação em Medicina: Ciências Médicas

Porto Alegre

2019

*“Muito importa, e acima de tudo, ter uma determinada determinação de não parar até chegar à meta, surja o que surgir, aconteça o que acontecer, custe o que custar, murmure quem murmurar.”*  
*Santa Teresa de Jesus, Caminho de Perfeição, 21,2*

## **Agradecimentos**

A Deus, por ter concedido as graças necessárias para que esse trabalho fosse concluído e por dar sentido à sua realização.

À minha esposa, Larissa Rolim, pela vida e pelo amor compartilhados, por ter assumido comigo essa empreitada de incontáveis formas, principalmente suportando minha ausência e tentando amenizá-la no dia-a-dia dos nossos filhos.

Aos meus filhos, Miguel, Cecília e Augusto, por terem sido generosos em conceder um tempo que deveria ser seu para eu poder realizar esse sonho.

Aos meus pais, Sidnei e Concessa, por terem me oferecido, especialmente por seu exemplo, as ferramentas necessárias para poder cumprir essa etapa. À minha irmã Andréia e sua família, Alexandre, Juliana e Gabriela, pela parceria de sempre e por terem oferecido, em muitos momentos, um pouco de descontração em meio à turbulência.

À minha sogra Lourdes, meus cunhados Igor e Nadja e ao sobrinho Rodrigo, por terem nos oferecido o suporte necessário no cuidado com as crianças ao longo desse período.

Aos meus irmãos da Comunidade Santa Teresa de Jesus, aos Frades Carmelitas, em especial meu padrinho, Frei Davi Alves Soares, e às Irmãs Carmelitas Descalças, pelas orações e por terem colaborado para manter viva a chama da fé.

Aos ex-colegas e hoje amigos do Ambulatório de Infectologia, especialmente à Enfermeira Rosane Souza Quadros e à Assistente Social Ana Lair Correa, por terem aberto as portas dessa antiga casa para um novo desafio.

Aos membros do Serviço de Infectologia do HCPA, especialmente à Dra. Letícia Sudbrack, à Biomédica Helenita Klein de Abreu e à acadêmica de Enfermagem Carla Rosana Goulart Castro Rodrigues, por terem colaborado de forma decisiva na inclusão de pacientes.

Ao Prof. Dr. Alessandro Pasqualotto e à Biomédica Caurio, pela colaboração no cuidado e processamento dos testes diagnósticos.

Aos colegas de trabalho no Serviço de Controle de Infecção e na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital Divina Providência e no Serviço de Controle de Infecção do Hospital São Camilo, por terem compreendido as eventuais ausências, horários atípicos e recorrente falta de memória!

Aos membros da banca, Prof. Dr. Luciano Goldani, Prof. Dr. Alexandre Schwarzbald, Prof. Dra. Maria Helena Rigatto e Dr. Dimas Kliemann, por terem aceitado avaliar este trabalho e colaborar com seu aprimoramento.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que, mesmo em um contexto de dificuldade, em que a realização de pesquisa não tem os adequados apoio e o reconhecimento, segue cumprindo sua missão de formar pesquisadores.

Por fim, ao Prof. Dr. Diego Rodrigues Falci, que com generosidade me permitiu realizar essa pesquisa, com competência orientou sua realização e com paciência tolerou as eventuais dificuldades e imperfeições. Voltar a trabalhar juntos novamente foi um prazer. Tua forma de orientar permitiu que o projeto tivesse começo, meio e, principalmente, fim. Que logo possamos ter um projeto em comum novamente!

## RESUMO

### *Base teórica*

A despeito dos avanços decorrentes da terapia antirretroviral em relação à disseminação do HIV, segue existindo um grande contingente de pessoas em situação de risco para ocorrência de doenças oportunistas. Histoplasmosose tem elevada frequência na América Latina e vem sendo cada vez mais reconhecida em outras partes do mundo. Criptococose, por sua vez, é a infecção do sistema nervoso central mais comum em várias partes do mundo. A cidade de Porto Alegre e sua região metropolitana estão entre as de maior prevalência da infecção pelo HIV no Brasil.

### *Objetivo*

Avaliar a prevalência dos antígenos de *H. capsulatum* e *C. neoformans* em pessoas vivendo com HIV na cidade de Porto Alegre e na sua região metropolitana e verificar fatores de risco e prognóstico associados à sua ocorrência.

### *Métodos*

Foi realizado um estudo de coorte que incluiu pessoas vivendo com HIV em um hospital de Porto Alegre e em um ambulatório de Sapucaia do Sul. Incluíram-se pacientes iniciando ou retomando acompanhamento, ou sobre os quais havia suspeita de uma das doenças em estudo. Para determinar as prevalências, foram pesquisados antígenos de *H. capsulatum* na urina e de *C. neoformans* no sangue total. Além disso, foram coletadas informações clínicas e de exames complementares dos pacientes no momento da inclusão e realizou-se seu acompanhamento em 30, 60, 90 e 120 dias.

### *Resultados*

Foram incluídos 74 pacientes e as prevalências gerais de antígeno de *H. capsulatum* e de *C. neoformans* foram respectivamente de 13,1% e 4,1%. Entre pacientes com  $CD4 \leq 200$ , a prevalência de antígeno de *C. neoformans* foi de 10%. Sua presença se associou com a existência de alterações de força e sensibilidade. A prevalência de antígeno de *H. capsulatum* elevou-se conforme o grau de imunossupressão, sendo de 7,1% com  $CD4 > 200$  e 28,6% com  $CD4 < 50$ . Verificou-se associação de positividade deste teste com a presença de sintomas respiratórios e de lesões de pele. A mortalidade geral foi de 7,5%. Pacientes com pesquisa de antígeno criptocócico positivo tiveram uma tendência a maior mortalidade ( $p = 0,081$ ).

### *Conclusão*

A taxa prevalência de antígenos de *H. capsulatum* foi elevada e a de *C. neoformans* intermediária, ambas mais relevantes em situação de imunossupressão avançada. Em relação a *H. capsulatum*, essa prevalência foi importante mesmo em contextos de imunossupressão não tão severa quanto o habitualmente considerado. As alterações clínicas que se associaram com

a presença de antígeno podem servir com sinais de alerta em relação à existência dessas doenças.

Palavras-chave:

AIDS, histoplasmose, criptococose, antígeno, prevalência, rastreamento.

## ABSTRACT

### *Background*

Despite the advances made by antiretroviral therapy in relation to the spread of HIV, there is still a large contingent of people at risk for opportunistic diseases. Histoplasmosis has a high frequency in Latin America and has been increasingly recognized in other regions of the world. Cryptococcosis is the most common central nervous system infection in many parts of the world. The city of Porto Alegre and its metropolitan region are among the most prevalent of HIV infection in Brazil.

### *Objective*

To evaluate the prevalence of *H. capsulatum* and *C. neoformans* antigens in people living with HIV in the city of Porto Alegre and its metropolitan region and to verify risk and prognostic factors associated with its occurrence.

### *Methods*

We conducted a cohort study that included people living with HIV in a hospital in Porto Alegre and an outpatient clinic in Sapucaia do Sul. Were included patients who were starting or resuming follow-up or who had suspected one of the diseases under study. In order to determine the prevalences, *H. capsulatum* antigen was investigated in the urine and *C. neoformans* in the whole blood. In addition, information about signals and symptoms and complementary exams were collected at the time of inclusion and followed up at 30, 60, 90 and 120 days.

### *Results*

We included 74 patients and the overall prevalence of *H. capsulatum* and *C. neoformans* antigen were 13.1% and 4.1%, respectively. Among patients with  $CD4 \leq 200$ , the prevalence of *C. neoformans* antigen was 10%. Its presence was associated with alterations in force and sensitivity, besides showing a tendency of association with mortality. The prevalence of *H. capsulatum* antigen increased according to the degree of immunosuppression, being 7.1% with  $CD4 > 200$  and 28.6% with  $CD4 < 50$ . The positivity of this test was associated with respiratory symptoms and skin lesions. Overall mortality was 7.5%. Patients with positive cryptococcal antigen presented a trend to higher mortality ( $p = 0.081$ ).

### *Conclusion*

Prevalence of *H. capsulatum* antigen was high and of *C. neoformans* was intermediate, both more relevant in advanced immunosuppression. *H. capsulatum* prevalence was significant even in immunosuppression contexts not as severe as commonly considered. Clinical changes



associated with the presence of antigen may serve as warning signs regarding the existence of these diseases.

Keywords:

AIDS, histoplasmosis, cryptococcosis, antigen, prevalence, screening.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama da estratégia utilizada para revisão da literatura

Figura 2: Probabilidades pré e pós-teste do teste policlonal do CDC para pesquisa de antígeno de *Histoplasma capsulatum* conforme variação da prevalência

Figura 3: Probabilidades pré e pós-teste do teste monoclonal IMMY para pesquisa de antígeno de *Histoplasma capsulatum*

Figura 4: Diagrama resumindo os estudos de prevalência de antigenemia criptocócica em pacientes infectados pelo HIV de 1989 a 2016

Figura 5: Análise de sobrevivência de acordo com a titulação do teste *lateral flow assay* em 287 pessoas infectadas pelo HIV com pesquisa de antígeno criptocócico positiva em 4 coortes da Etiópia, África do Sul, Tanzânia e Uganda

Figura 6. Marco conceitual da epidemiologia de histoplasmose e criptococose em pessoas vivendo com HIV e da utilização dos testes antigênicos para diagnóstico e rastreamento

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Sumário da performance analítica dos testes diagnósticos de histoplasmose disseminada

Tabela 2: Modelo multivariado para predição clínica de histoplasmose provável ou confirmada em pessoas vivendo com HIV/AIDS

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AIDS: síndrome da imunodeficiência adquirida

ARV: antirretrovirais

CDC/EUA: Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos da América

ELISA: imunoenensaio enzimático

EUA: Estados Unidos da América

FDA: *Food and Drug Administration*

HIV: vírus da imunodeficiência humana

HPA: antígeno polissacarídico de *Histoplasma capsulatum*

LA: *látex agglutination*

LFA: *lateral flow assay*

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCR: *polymerase chain reaction*

POC: *point-of-care*

ROC: *receiver operator characteristic*

TARV: terapia antirretroviral

WB: *western-blot*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	15
2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações .....	15
2.2 Panorama da doença do HIV .....	16
2.3. Importância das micoses .....	17
2.4. Histoplasmose .....	18
2.4.1. Métodos diagnósticos não baseados em cultura para histoplasmose disseminada em pacientes com HIV .....	19
2.4.2. Epidemiologia da histoplasmose disseminada associada ao HIV .....	24
2.4.3. Fatores de risco e prognósticos em histoplasmose disseminada associada ao HIV .....	26
2.5. Criptococose .....	28
2.5.1. Detecção de antígenos para diagnóstico de meningite criptocócica em pacientes com HIV .....	29
2.5.2. Detecção de antígenos por LFA para rastreamento de criptococose em pacientes com HIV .....	32
2.5.3. Epidemiologia da criptococose associada ao HIV .....	38
2.5.4. Fatores de risco e prognósticos em criptococose associada ao HIV .....	39
<b>3. MARCO CONCEITUAL</b> .....	41
<b>4. JUSTIFICATIVA</b> .....	42
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	44
5.1 Objetivo primário .....	44
5.2 Objetivos secundários .....	44
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	45
<b>7. ARTIGO</b> .....	58
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	75
<b>9. PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	77

## 1. INTRODUÇÃO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) é a manifestação mais severa da doença causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e caracteriza-se pela ocorrência de infecções oportunistas, neoplasias e outras manifestações ameaçadoras da vida<sup>1</sup>. Desde o reconhecimento do HIV, a mortalidade relacionada ao vírus cresceu de forma contínua até o ano de 2006, quando atingiu seu auge<sup>2</sup>. A partir desse momento, observou-se uma diminuição da disseminação do vírus.

Ainda existem, contudo, muitos desafios a serem enfrentados: há uma parcela significativa de pessoas que não está sendo tratada, a estimativa de casos novos fora da África Subsaariana teve pouca modificação nos últimos anos<sup>3</sup> e a contagem de linfócitos CD4 (CD4) no início do tratamento está em platô<sup>4</sup>. Segue havendo, portanto, milhões de pessoas em situação de risco para ocorrência de doenças oportunistas, entre as quais estão as doenças fúngicas oportunistas. Diferente dos países com grandes recursos, onde a maior disponibilidade de TARV e o diagnóstico mais precoce determinou uma diminuição na ocorrência dessas doenças<sup>5</sup>, nos países com prevalência elevada da infecção pelo HIV há poucas evidências dessa diminuição<sup>6</sup>. Em diversas partes do mundo, *Cryptococcus neoformans* é o maior causador de infecção do sistema nervoso central. Na América Latina, *Histoplasma capsulatum* tem grande importância, estimando-se que tenha incidência semelhante e cause mais de mortes do que a tuberculose<sup>7</sup>.

Considera-se a histoplasmose uma doença endêmica especialmente nas Américas, mas que mais recentemente está sendo reconhecida no mundo todo. Existem áreas hiperendêmicas, entre as quais algumas regiões do Brasil<sup>8</sup>. Entre pessoas com HIV, febris, admitidas para internação hospitalar, a prevalência de histoplasmose provável ou confirmada foi de cerca de 21%<sup>9</sup>. A criptococose é outra micose frequente em indivíduos vivendo com HIV. Estima-se que em 2014 tenham havido 223100 casos incidentes de meningite criptocócica e que aconteceram 181000 mortes no mundo<sup>10</sup>. No Brasil, a mortalidade mostrou-se elevada, na faixa dos 40%<sup>11</sup>.

A detecção do antígeno polissacarídico de *H. capsulatum* (HPA) para diagnóstico dessa doença pode ser realizada em espécimes clínicos facilmente obtíveis, como sangue e urina, tem elevada sensibilidade e tempo curto para realização<sup>12</sup>. O diagnóstico de criptococose através da pesquisa de antígeno é uma prática já consagrada. Recentemente, contudo, obteve-se um grande avanço com o desenvolvimento da pesquisa de antígeno criptocócico através de ensaio de fluxo lateral (“*lateral flow assay*” – LFA). Comparada com às pesquisas tradicionais, essa

metodologia não exige estrutura laboratorial para realização e propicia um diagnóstico mais rápido<sup>13</sup>. Sua utilização para rastreamento já se mostrou custo-efetiva, levando a Organização Mundial da Saúde (OMS) a recomendar sua realização<sup>14</sup>.

O objetivo deste estudo é avaliar a prevalência dos antígenos de *H. capsulatum* e de *C. neoformans* em pessoas com HIV e verificar fatores de risco e prognósticos associados com sua ocorrência na cidade de Porto Alegre e na sua região metropolitana. Nessa cidade, a taxa de detecção de HIV é 3,3 vezes maior do que a do Brasil. Em relação à mortalidade, o coeficiente do município é 24,2 por 100000 habitantes, cerca de 5 vezes a média do país, a pior entre as capitais brasileiras. Avaliando-se aspectos epidemiológicos da infecção pelo HIV (taxa média de detecção, taxa de mortalidade, variação destas taxas e contagem de células CD4 no momento do diagnóstico) e considerando-se as cidades brasileiras com mais de 100 mil habitantes, 9 das 100 cidades com piores resultados estão nessa região<sup>15</sup>.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Estratégia para busca de publicações:

Para realização da busca de publicações pertinentes ao assunto da revisão, foi feita uma procura inicial com a sigla “HIV” e o nome em inglês das doenças causadas pelos fungos (HIV e “*histoplasmosis*” e HIV e “*cryptococcosis*”). A partir desse primeiro resultado, realizaram-se 3 pesquisas com palavras-chave focadas no tema em estudo. Como o número de publicações em criptococose e histoplasmose são muito desiguais (nas bases de dados pesquisadas há, em média, 4 a 5 artigos de HIV/criptococose para cada artigo de HIV/histoplasmose), as palavras utilizadas foram diferentes. Para busca das publicações de criptococose, foram usadas as palavras “*screening*”, “*point-of-care*” e “*lateral flow assay*”. Para histoplasmose, empregaram-se as palavras “*antigen*”, “*histoplasma antigen*” e “*prevalence*”. Foram consultadas as bases de dados PubMed, Scielo, Web of Science e Embase. Não se colocou restrição de língua ou data de publicação. Na base de dados Scielo, a busca foi feita também com os termos em língua portuguesa e espanhola. No PubMed, utilizaram-se termos MeSH e seus respectivos “*entry terms*” nos casos em que havia essa possibilidade, a saber, na sigla “HIV” e nas palavras “*histoplasmosis*”, “*cryptococcosis*”, “*mass screenings*”, “*point-of-care systems*”, “*prevalence*” e “*antigen*”. No Embase, foram usados os seguintes termos “*mtree*”: “HIV”, “*cryptococcosis*” e “*point-of-care systems*”. A estratégia utilizada está representada na figura 1.

Após exclusão dos resultados duplicados, foram analisadas 223 publicações relacionadas à histoplasmose e 403 relativas à criptococose. Em relação à revisão de histoplasmose, foram excluídos 159 artigos. Os motivos para exclusão são os seguintes: relatos ou séries de casos, revisões, não tratar de histoplasmose, abordar aspectos imunológicos da infecção, não tratar de doença em pacientes com HIV, abordar epidemiologia de doenças fúngicas, tratar de síndrome inflamatória de reconstituição imunológica, aspectos clínicos da doença, suspensão de profilaxia secundária, estudos em pediatria, recomendações de tratamento. Dois artigos não foram encontrados. Das 403 publicações de criptococose, excluíram-se 266 pelas razões a seguir: revisões, cartas, editoriais, comentários, relatos ou séries de casos, abordar aspectos clínicos da doença, não tratar de criptococose, estudos específicos de HIV (síndrome inflamatória de reconstituição imunológica, tratamento antirretroviral, epidemiologia, inquéritos de doenças oportunistas), estudos com sujeitos sem HIV ou mesclando com e sem o vírus, tratamento de meningite criptocócica, aspectos específicos do fungo, avaliação de métodos diagnósticos não-antigênicos, fatores imunológicos



da infecção, recomendações de tratamento, antifúngicos, estudos em pediatria. Uma das publicações não foi encontrada.

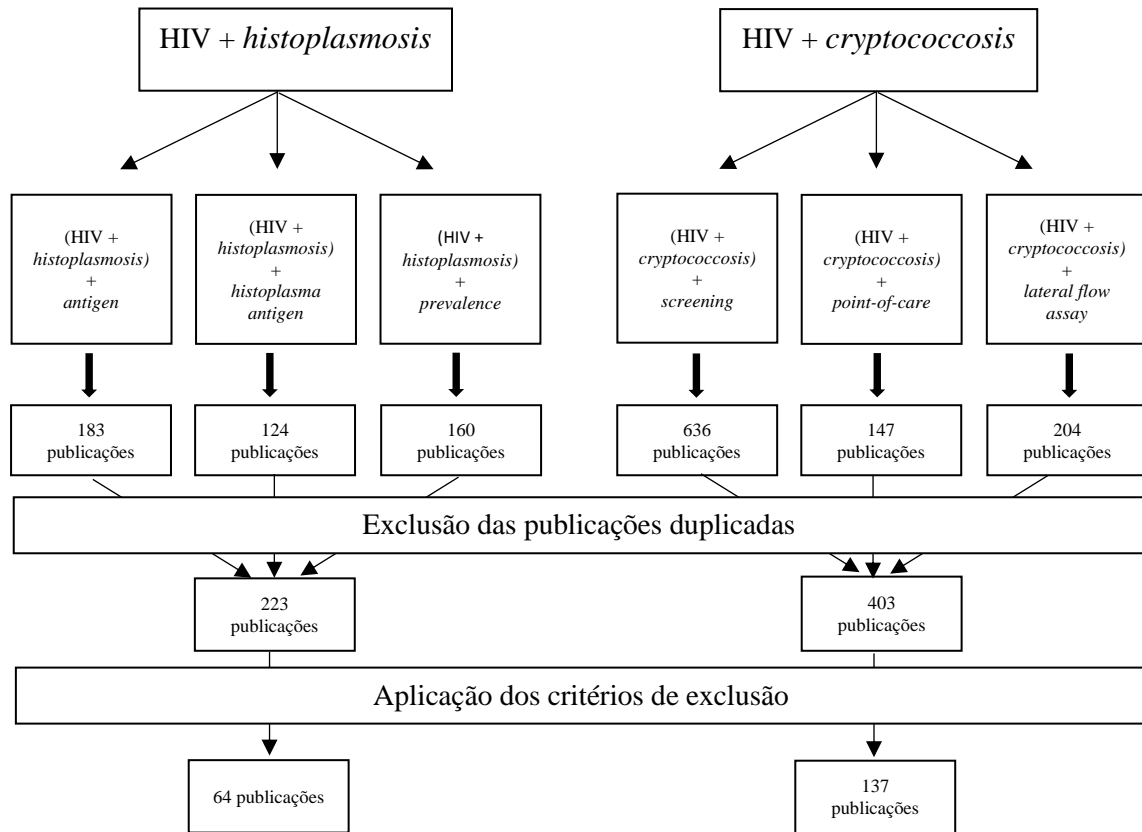


Figura 1: Diagrama da estratégia utilizada para revisão da literatura

## 2.2. Panorama da doença do HIV

No início dos anos 80 do século passado, a ocorrência inesperada de um número excessivo de casos de uma micose até então incomum, a pneumonia por *Pneumocystis jirovecii*, acabou levando ao reconhecimento do HIV<sup>16</sup>. A partir de então, a infecção pelo vírus tornou-se pandêmica, afetando todas as regiões do mundo e tornando-se uma causa importante de morbimortalidade, especialmente em adultos jovens<sup>1</sup>.

Em 2006 a mortalidade relacionada ao HIV chegou ao seu pior momento. Estima-se que tenham ocorrido cerca de 1,95 milhão (1,87-2,04) de mortes relacionadas ao vírus. O número de novos casos teve seu auge em 1999, quando ocorreram 3,16 milhões (2,79-3,67) de novas infecções<sup>2</sup>. Especialmente nos países de grandes recursos, a incidência e a mortalidade relacionadas à AIDS tiveram uma redução significativa com a introdução da TARV altamente

ativa em 1996<sup>17</sup>. Entre 2007 e 2017, a taxa global anual padronizada pela idade de mudança na incidência de HIV diminuiu 3% (1,5-4,5). Em 2007, aconteceram 2,35 milhões (2,02-2,76) de novas infecções, enquanto em 2017 foram 1,94 milhão (1,63-2,29). A confluência desses fatores fez com a sobrevida tenha aumentado de forma expressiva e que a prevalência da infecção tenha aumentado de 8,74 milhões (7,9-9,68) de pessoas vivendo com o vírus em 1990 para 36,8 milhões (34,8-39,2) em 2017. Ainda assim, desse total de pessoas infectadas, 40,5% (IC95% 37,8%-43,7%) ainda não estavam recebendo terapia antirretroviral (TARV) no mesmo ano<sup>2</sup>.

Para se ter uma avaliação adequada do cenário atual da pandemia de HIV, portanto, os avanços que aconteceram precisam ser confrontados com os inúmeros desafios que ainda precisam de respostas. Como relatado, embora o número de pacientes recebendo TARV seja grande, existe um grande contingente de pessoas infectadas que não está sendo tratada. As estimativas de pessoas começando antirretrovirais (ARV) podem estar superestimadas, uma vez que incluem aqueles pacientes que não mantêm o tratamento após seu período inicial e contabilizam em duplicidade pessoas que o abandonam e depois reiniciam as medicações<sup>18</sup>. A estimativa de casos novos fora da África Subsaariana teve pouca modificação nos últimos anos<sup>3</sup> e a contagem de CD4 no início do tratamento está em platô, sugerindo que progressos em direção ao diagnóstico mais precoce da doença estão estagnados<sup>4</sup>.

Segue existindo, portanto, um contingente de milhões de pessoas em situação de risco para o aparecimento de doenças oportunistas. Dados de recrutamento de estudos de meningite criptocócica mostram que, embora o número de casos esteja estável ao longo do tempo, metade ou mais dos pacientes com essa doença estiveram em TARV, mas mantiveram contagens baixas de CD4 e seguiram, portanto, em situação de risco<sup>19</sup>. Nos países desenvolvidos, observou-se uma diminuição na ocorrência de micoses associadas ao HIV<sup>5</sup>, situação não observada nos países de recursos limitados, onde ainda há grande prevalência dessas doenças<sup>6</sup>.

### 2.3. Importância das micoses

Fungos são responsáveis por uma parcela expressiva das infecções oportunistas em pacientes com HIV em estágio avançado. Conforme já destacado, *Cryptococcus neoformans* é a causa mais comum de infecção do sistema nervoso central nesse grupo de pacientes em várias partes do mundo. *Histoplasma capsulatum*, por sua vez, além da já reconhecida relevância como causador de doença nas Américas, cada vez mais tem tido essa importância reconhecida em outras regiões do planeta. Ainda que varie conforme o local onde o paciente está sendo

atendido, ambas doenças têm taxa de mortalidade elevada. Para histoplasmose, essa taxa varia entre 10 e 60%<sup>13</sup>. No Brasil, um estudo multicêntrico recente verificou uma mortalidade de cerca de 22,0%<sup>9</sup>. Já a criptococose tem mortalidade de cerca de 40%<sup>20</sup>. Uma revisão de 2013 compilou estudos que revelaram mortalidade em torno de 40% no Brasil<sup>21</sup>, ainda que um estudo realizado em ambiente hospitalar tenha relatado taxa ainda mais elevada, na faixa dos 50%<sup>11</sup>. No Brasil, pacientes com HIV e doenças fúngicas internados em Unidade de Terapia Intensiva tem mortalidade maior do que pacientes com o vírus e complicações de outra etiologia (31% x 64,7%,  $p = 0,02$ ), sendo histoplasmose e criptococose as micoses responsáveis pelo maior número de internações desses pacientes nessas unidades<sup>22</sup>.

#### 2.4. Histoplasmose

Histoplasmose é um grupo de doenças causada pelo fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum*<sup>23</sup>. A infecção por esse fungo acontece pela inalação de microconídeos ou de fragmentos de micélios presentes no ambiente que, quando expostos à temperatura do corpo humano, convertem-se em leveduras. A partir da infecção, pode ocorrer uma grande variedade de situações, desde um quadro absolutamente assintomático, até o aparecimento de doença disseminada. Esta apresentação é particularmente importante em pacientes imunossuprimidos, entre os quais estão os pacientes com AIDS<sup>23</sup>. Sintomas comuns de histoplasmose disseminada incluem febre, fadiga, mal-estar, anorexia, perda de peso e sintomas respiratórios. O exame físico pode revelar adenomegalias, hepatomegalia, esplenomegalia e lesões de pele. Entre as alterações laboratoriais, são comuns anemia, leucopenia, trombocitopenia, elevação de transaminases e bilirrubinas, aumento de lactato desidrogenase e ferritina. Podem ocorrer quadros graves, com choque, insuficiência renal, hepática ou respiratória e coagulopatia, sendo possível a confusão com quadro de sepse bacteriana. Os sítios mais comuns de envolvimento são fígado, baço, trato gastrointestinal e medula óssea, mas pode haver envolvimento também de adrenais, sistema nervoso central e endocárdio. Alterações radiológicas comuns são infiltrados retículonodulares, intersticiais ou miliares<sup>12</sup>. Por essas razões, é comum a doença ser confundida com a tuberculose.

O diagnóstico definitivo de histoplasmose disseminada é feito a partir do crescimento do fungo em cultura de espécimes clínicos como amostras respiratórias, sangue e medula óssea, ou através de análise histopatológica. Tal confirmação, contudo, pode não ser possível por diversas causas, entre as quais: indisponibilidade dos insumos específicos, o crescimento do fungo em cultura pode levar até 6 semanas para ocorrer, a sensibilidade de alguns desses métodos é bastante baixa e pode não haver disponibilidade dos meios para obtenção de amostras

(biópsia de medula óssea, por exemplo)<sup>23</sup>. Na América Latina, a capacidade de realizar testes dessa natureza é baixa. Entre 129 centros analisados, apenas 9% tem potencial de aplicar os padrões mínimos recomendados pela Confederação Europeia de Micologia Médica<sup>24</sup>. Sendo assim, a importância de outros métodos diagnósticos, especialmente os não-baseados em cultura, é fundamental, pois permite o diagnóstico em pacientes que de outra forma ou não seriam diagnosticados ou precisariam um tempo muito grande para fazê-lo<sup>9, 25</sup>.

2.4.1. Métodos diagnósticos não baseados em cultura para histoplasmose disseminada em pacientes com HIV

Além dos métodos tradicionais, a doença pode ser diagnosticada através da realização de testes para pesquisa de anticorpos, de análise de biologia molecular e da detecção de antígeno de do fungo na urina, soro e lavado bronco-alveolar<sup>26</sup>.

#### 2.4.1.1. Detecção de anticorpos

As metodologias usadas para detecção de anticorpos são imunodifusão, fixação de complemento, imunoensaio enzimático (ELISA), *western-blot* (WB).

Na imunodifusão, são demonstradas bandas de precipitina H e/ou M. A precipitina H, normalmente presente em menos de 25% dos pacientes, habitualmente desaparece nos primeiros 6 meses após a infecção. A precipitina M está presente em 75% dos pacientes e pode persistir por alguns anos. Na fixação de complemento, títulos de 1:8 ou mais são encontrados na maioria dos pacientes com histoplasmose. Valores de 1:32 ou mais sugerem infecção ativa. Títulos elevados podem persistir por anos. Idealmente, esses testes devem ser realizados em conjunto para se obter uma maior sensibilidade. Além disso, podem ocorrer reações cruzadas em pacientes com blastomicose e coccidioidomicose e em imunossuprimidos, principal grupo de pacientes com histoplasmose disseminada, determinando resultados falso-positivos<sup>12</sup>.

Uma meta-análise recente avaliou estes testes em conjunto e encontrou especificidade de 100% (IC95% 99%-100%), mas sensibilidade de apenas 58% (IC95% 53%-62%). WB e ELISA tiveram sensibilidade melhor que as outras metodologias, 90% e 86%, respectivamente. A performance analítica destes testes, quando comparada com testes moleculares e de pesquisa de antígeno, foi a mais baixa<sup>27</sup>. Cabe destacar, contudo, que Arango-Bustamante *et al.* encontraram taxas elevadas de positividade na Colômbia, na faixa dos 92% para pacientes com HIV e 95% para pacientes sem HIV<sup>28</sup>.

#### 2.4.1.2. Testes moleculares

Embora existam muitas publicações sugerindo que a realização da reação em cadeia da polimerase (“*polymerase chain reaction*” – PCR) seja útil para o diagnóstico de histoplasmose, seu papel nesse contexto ainda é incerto. A meta-análise acima referida<sup>27</sup> encontrou 5 estudos avaliando a aplicabilidade desta metodologia em diferentes espécimes: respiratórios, amostra de tecido, sangue e medula óssea<sup>27</sup>. Entre os estudos analisados, não havia consenso em relação ao protocolo e genes-alvo usados e todos eram de metodologia *in house*. Dessa forma, embora seja uma metodologia promissora, a falta de métodos padronizados, o pequeno número de estudos de validação e a sua indisponibilidade são limitações para o uso.

#### 2.4.1.3. Detecção de antígenos

A detecção de HPA através de ELISA é atualmente disponível para uso a partir de fluidos de pacientes com histoplasmose<sup>29</sup>. O diagnóstico de histoplasmose através da detecção de antígenos (em urina e outros fluidos) é baseado na experiência de laboratórios de referência<sup>30</sup>. O teste para detectar HPA é realizado rotineiramente por um laboratório nos Estados Unidos da América (EUA - Laboratório MiraVista, Indianapolis, Indiana). Esse método, entretanto, não é disponibilizado para outros laboratórios, sendo sua realização feita exclusivamente neste laboratório através do envio de amostras para os EUA. O Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos da América (CDC/EUA) desenvolveu um teste, validado experimentalmente na Guatemala<sup>31</sup>, que utiliza amostras de urina e baseado no mesmo princípio do teste do Laboratório MiraVista. Ele diagnostica antígenos específicos de *Histoplasma capsulatum* e é validado por controles internos e uma curva padrão, aumentando a sensibilidade e a especificidade do resultado. O teste tem a vantagem de utilizar urina como amostra biológica, espécime obtido de forma fácil e não invasiva. Além deste teste alternativo do CDC, a IMMY *Diagnostics* (IMMY, Norman, Oklahoma, EUA) desenvolveu outros dois testes para detecção de HPA, obtendo resultados comparáveis ao do teste original do Laboratório Miravista. O primeiro teste disponibilizado pela empresa, ALPHA *Histoplasma antigen immunoassay*, utiliza anticorpos policlonais e tem sensibilidade variável (62%-81%)<sup>9</sup>. É um método que já foi validado e encontra-se disponível para comercialização, tendo ampla utilização. Mais recentemente, foi criado um segundo teste, que tem como alvo a identificação de galactomanano de *Histoplasma*. Esse teste utiliza anticorpos monoclonais, tem sensibilidade mais elevada e teve um bom desempenho em um recente estudo realizado na América Latina, demonstrando sensibilidade de 98% e especificidade de 97%<sup>32</sup>. O primeiro teste tem aprovação pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e marcação CE já há alguns anos. O segundo recebeu recentemente estas certificações. O Laboratório MiraVista desenvolveu recentemente

um teste *point-of-care* (POC) para detecção de HPA no soro usando metodologia LFA. Na sua avaliação inicial, o teste teve sensibilidade de 96% e especificidade de 90%. Esse teste pode revolucionar o diagnóstico dessa doença, pois pode ser feito com mínima infraestrutura e pouca necessidade de equipamentos<sup>33</sup>.

Uma meta-análise e uma revisão sistemática abordando o diagnóstico de histoplasmose em pacientes com HIV foram recentemente publicadas<sup>27, 34</sup>. A meta-análise avaliou o desempenho de cultura, testes antigênicos, sorológicos e moleculares, concluindo que os testes baseados na pesquisa de antígenos têm a melhor performance analítica (tabela 1). Além disso, enumerou uma série de possíveis vantagens deste tipo de pesquisa. Na medida que este tipo de testes é comercialmente disponível, sua incorporação nos laboratórios clínicos é mais fácil, reduzindo os problemas técnicos relacionados ao desempenho de técnicas *in house*. Nos locais em que foram implementados, foi possível diagnosticar um maior número de pacientes do que com as metodologias tradicionais de diagnóstico (cultura e histopatologia)<sup>23, 32, 35</sup>. A maneira mais rápida e fácil com que os testes são realizados determinam um tempo menor para o diagnóstico e redução na mortalidade associada à doença<sup>9, 36-38</sup>. Esse tipo de análise pode ser realizado em laboratórios sem a estrutura de biossegurança necessária para realização de culturas ou testes moleculares. Suas potenciais desvantagens são a necessidade de vários “poços” para controle de qualidade e formação da curva-padrão, o que pode reduzir sua custo-efetividade. A revisão sistemática, por sua vez, abordou especificamente os testes de detecção de antígeno para diagnóstico de histoplasmose em pacientes com HIV em estágio avançado provenientes de países de baixos e de médios recursos. A heterogeneidade das publicações analisadas foi grande, havendo estudos que mesclaram pacientes com e sem HIV, alguns que avaliaram doença disseminada e outras apresentações de histoplasmose, além de pesquisas realizadas sem a utilização de casos com confirmação micológica como padrão-ouro. Após a aplicação dos critérios de exclusão, apenas 3 estudos foram avaliados. Nesses 3 estudos, foram analisados dois tipos de teste antigênico, o do CDC e o IMMY monoclonal. O teste do CDC na urina teve sensibilidade de 81% (IC95% 67%-91%) e especificidade de 95% (IC95% 91%-98%). A área sob a curva *receiver operator characteristic* (ROC) foi 0,87 e as razões de verossimilhança positiva e negativa foram respectivamente 16,1 (7,4-45,4) e 0,2 (0,09-0,36). Em áreas de baixa prevalência, portanto, houve uma probabilidade pós-teste baixa quando o teste CDC foi positivo, ainda que essa probabilidade aumente rapidamente com a prevalência. De forma oposta, em áreas de baixa prevalência, um teste CDC negativo ainda está associado com uma probabilidade de 0,11 de haver doença. Em relação ao teste IMMY monoclonal,

aplicando-se as recomendações do fabricante, obteve-se uma sensibilidade de 98% (IC95% 95%-100%) e especificidade de 97% (IC95% 96%-99%). As áreas sob a curva ROC foram 0,99 para determinação quantitativa e 0,97 para adaptação semi-quantitativa. As razões de verossimilhança positiva e negativa foram 32,6 (IC95% 19-100) e 0,02 (IC95% 0-0,05), respectivamente. No geral, o teste IMMY ALPHA teve desempenho melhor que o teste CDC em um contexto similar de pacientes da América Latina (figuras 2 e 3).

Tabela 1: Sumário da performance analítica dos testes diagnósticos de histoplasmose disseminada.

Teste	%Sensibilidade (IC 95%)	%Especificidade (IC 95%)	Acurácia (IC 95%)	RV+/RV-	1/RV- (IC 95%)
<b>Detecção anticorpo</b>	58 (53-62)	100 (99-100)	89 (87-91)	1146,3 (8,5-154326,2)/0,4 (0,2-0,7)	2,3 (1,4-3,7)
<b>Detecção antígeno</b>	95 (94-97)	97 (97-98)	95 (94-96)	18,7 (11,7-30,1)/0,07 (0,04-0,13)	13,2 (7,7-22,7)
<b>Testes Moleculares</b>	95 (89-100)	99 (96-100)	96 (94-99)	70,7 (7,2-691,9)/0,08 (0,02-0,27)	12,3 (3,6-41,1)

Legenda: RV-: razão de verossimilhança negativa, RV+: razão de verossimilhança positiva, 1/RV-: inverso da razão de verossimilhança negativa, IC 95%: intervalo de confiança de 95%.

Adaptado de Caceres DH *et al.*<sup>27</sup>

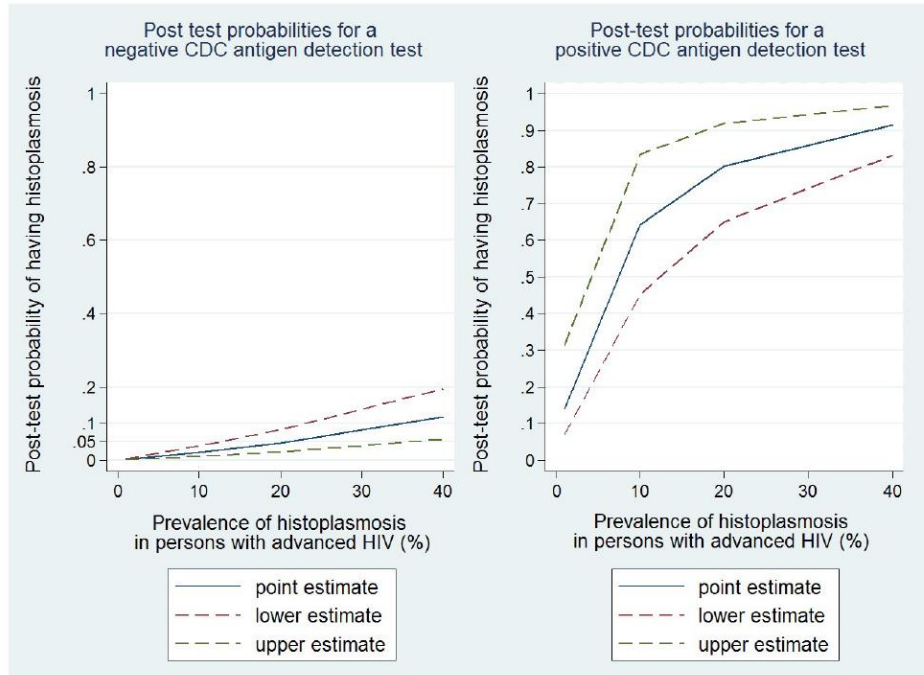


Figura 2: Probabilidades pré e pós-teste do teste policlonal do CDC para pesquisa de antígeno de *Histoplasma capsulatum* conforme variação da prevalência. Reproduzido de Nacher *et al.*<sup>34</sup>

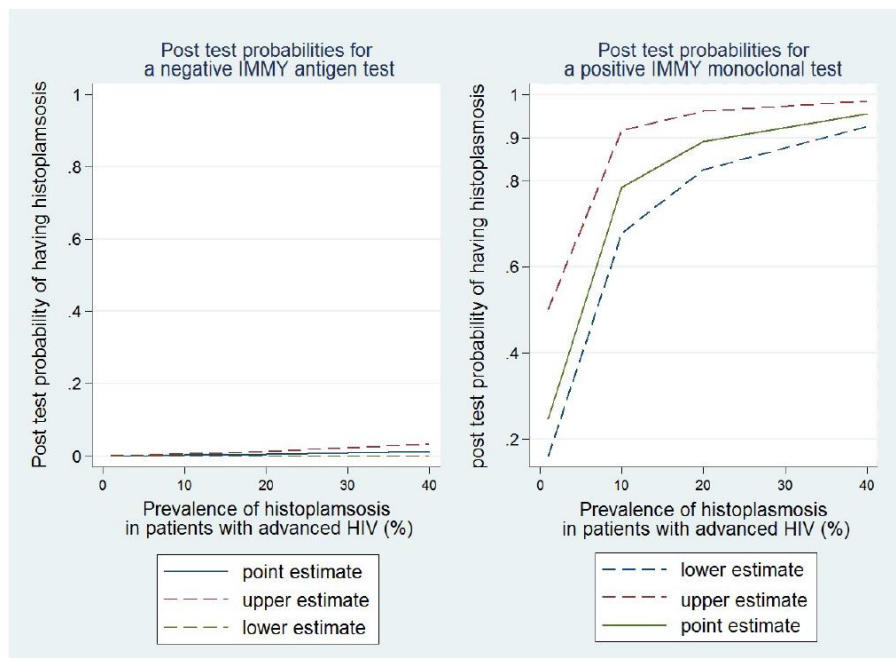


Figura 3: Probabilidades pré e pós-teste do teste monoclonal IMMY para pesquisa de antígeno de *Histoplasma capsulatum*. Reproduzido de Nacher *et al.*<sup>34</sup>



Merece destaque, ainda, o estudo de Hoffmann *et al*<sup>23</sup>, primeiro a comparar o desempenho dos testes CDC e IMMY e realizado no nosso meio. Entre os 78 pacientes incluídos e sobre os quais havia suspeita de histoplasmose disseminada, foi verificada uma prevalência de 10,3% com a utilização dos métodos clássicos de diagnóstico. A utilização do teste IMMY determinou uma prevalência de 16,7% e o CDC de 17,9%. Ambos tiveram, na comparação com o teste padrão-ouro, uma sensibilidade de 100% e houve grande concordância entre eles.

#### 2.4.2. Epidemiologia da histoplasmose disseminada associada ao HIV

Casos autóctones de histoplasmose já foram relatados em cinco continentes. Classicamente, a doença tem sido descrita como de maior importância no centro-leste dos EUA e na América Latina<sup>39</sup>. A ocorrência da forma disseminada dessa micose associada ao HIV, contudo, provavelmente é mais comum e mais difundida do que até então se acreditava<sup>13</sup>. Sua ocorrência provavelmente é negligenciada, subdiagnosticada e confundida com a tuberculose<sup>40</sup>.

Na Nigéria, por exemplo, uma avaliação com histoplasmina intradérmica encontrou uma taxa de positividade de 4,4% entre pessoas com e sem HIV. Quando avaliadas apenas as pessoas com o vírus e CD4 > 350 células/ $\mu$ L, a taxa foi de 5%<sup>41</sup>. Deve-se destacar que este país possui a segunda maior população de pessoas vivendo com HIV do continente africano. Uma grande revisão de 2018 abordou diversos aspectos relacionados à ocorrência de histoplasmose na África<sup>42</sup>. Revisando-se a literatura, foram encontrados 470 casos de histoplasmose em 32 países da região. Uma parcela significativa desses casos foi relatada antes da pandemia de HIV, sendo 247 deles em pessoas HIV-negativas. A Nigéria foi o país com maior número de casos, 124, sendo que apenas 4 foram de doença disseminada em pacientes com HIV. Confrontando-se esses dados com as elevadas taxas de pessoas infectadas pelo HIV na região, pode-se considerar fortemente a possibilidade de ocorrência e não reconhecimento da doença. Deve-se fazer a ressalva de que no continente africano o *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* coexiste com *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, que também pode causar doença disseminada em pacientes imunossuprimidos.

Em 2012, Pan *et al.* revisaram a literatura em busca de casos de histoplasmose na China<sup>43</sup>. Foram encontrados 300 casos, a maioria autóctones. O vale do rio Yangtsé, embora tenha apenas 34,6% da população do país, foi responsável por 75% dos casos identificados. A principal forma de apresentação foi histoplasmose disseminada, que aconteceu em 85,6% dos pacientes (257/300). Em 173, ou seja, 57%, foi identificada uma condição predisponente, sendo

HIV a mais frequente (22%, 38/173) e *diabetes mellitus* a segunda mais comum (10,4%, 18/173).

*H. capsulatum* é endêmico nas Américas. Desde o aparecimento do HIV, muitos relatos convergentes sugerem que histoplasmose disseminada é uma das infecções definidoras de AIDS mais comuns na região, sendo responsável por um grande número de mortes<sup>44</sup>. Estudos utilizando teste histoplasmina intradérmica mostram que a presença do fungo e a exposição dos habitantes a ele é elevada<sup>45</sup>. Alguns grupos conseguiram demonstrar a importância da doença na América Latina: no Panamá, 7,5% dos pacientes com HIV tem histoplasmose comprovada por cultura; na Guatemala, histoplasmose é a segunda infecção oportunista mais comum; no Brasil, mais especificamente em Fortaleza, 43% dos pacientes internados tem histoplasmose disseminada; na Guiana Francesa, histoplasmose é a infecção definidora de AIDS mais comum e a maior causa de morte relacionada a essa doença<sup>46-50</sup>.

Um estudo de 2018<sup>7</sup> fez uma estimativa da carga de histoplasmose associada ao HIV na América Latina no ano de 2012 e comparou essa estimativa com informações relativas à tuberculose. Sendo uma estimativa, foram levados em conta diversos possíveis cenários de mortalidade e de evolução com doença sintomática ou assintomática. O número estimado de casos de histoplasmose associada ao HIV ficou entre 5680 no melhor cenário e 18357 no pior. As áreas com maior prevalência (>30%) e incidência (>1,5 casos por 100 pessoas vivendo com HIV) foram a América Central, a região norte da América do Sul e a Argentina. O número de mortes calculada ficou entre 671 e 9394. O número pessoas com tuberculose sintomática associada ao HIV em 2012 foi de 26202, com 5062 mortes<sup>51</sup>.

No Brasil, um grande e recente estudo de coorte prospectivo avaliou a prevalência, fatores de risco e desfechos de histoplasmose em pessoas vivendo com HIV<sup>9</sup>. Foram avaliadas pessoas internadas em hospitais de 4 regiões do país, sendo necessário para inclusão a existência de febre e pelo menos um dos seguintes achados: perda de peso, diarreia, padrão miliar ao raio-x de tórax, pancitopenia, linfadenopatia, esplenomegalia e hepatomegalia. A doença foi identificada em 21,6% dos 570 pacientes incluídos. Foram realizados os testes convencionais para diagnóstico, assim como pesquisa de HPA na urina com o teste IMMY monoclonal. A utilização desta metodologia trouxe um acréscimo de rendimento diagnóstico de 53,8%. Uma revisão sistemática da ocorrência de histoplasmose no país foi publicada em 2019<sup>52</sup> e traz outros elementos que podem colaborar para um melhor entendimento dessa doença em nosso meio: a pesquisa de antígeno não está disponível para diagnóstico no país, HIV é o principal fator

predisponente para ocorrência dessa micose, histoplasmose disseminada é a principal forma de apresentação e a mortalidade geral é de 33%.

No Rio Grande do Sul, um inquérito realizado na década de 90 do século passado com a população geral encontrou prevalência elevada de reação à histoplasmina nas cidades de Cachoeira do Sul e Santo Ângelo: 89% e 39%, respectivamente<sup>53</sup>. Uma avaliação de 111 casos de histoplasmose disseminada neste estado mostrou que AIDS é o principal fator predisponente dessa doença, sendo responsável por 63% dos casos identificados. Febre e emagrecimento foram os sintomas mais comuns, estando presentes em 97,1% dos pacientes com AIDS e 92,7% dos pacientes sem a síndrome. A positividade de testes sorológicos foi baixa, sendo respectivamente de 54,5% e 65,3% nos pacientes com e sem AIDS<sup>54</sup>.

#### 2.4.3. Fatores de risco e prognósticos em histoplasmose disseminada associada ao HIV

Ainda nos anos 90, uma coorte de 304 pacientes com HIV relatou uma incidência de 4,7% ao ano de histoplasmose<sup>55</sup>. Dos pacientes com histoplasmose, 74% eram sintomáticos e todos eles tinham doença disseminada. Exposição a galinheiros, teste sorológico positivo e CD4 < 150 células/ $\mu$ L foram associados com a presença de histoplasmose. Reação positiva à histoplasmina e existência de cavitação não se relacionaram com a presença da doença. Estudo realizado na Guiana Francesa<sup>56</sup>, publicado em 2008 e relatando a experiência de 25 anos no manejo desta doença, revelou os seguintes dados: no momento do diagnóstico, 92% dos pacientes não estava TARV, 80% tinha CD4 < 100 células/ $\mu$ L e 36,6% tinha outra doença oportunista associada. Entre os achados laboratoriais, elevação de aspartato aminotransferase e lactato desidrogenase foram comuns. Em apenas 14,3% dos casos foi iniciado tratamento antes da confirmação do diagnóstico e a mortalidade relatada em 30 dias foi de 17,5%. Samayoa *et al*, em 2017, publicaram dados de pacientes internados em hospital na Guatemala<sup>38</sup>. A partir da aplicação de um escore clínico, foram avaliados 263 pacientes para os quais foi aventada a possibilidade de histoplasmose. Após essa hipótese, foi realizada a investigação com exames complementares. Entre os pacientes incluídos, 38,4% teve diagnóstico confirmado, tanto por cultura, quanto por antígeno urinário. A mediana para início de tratamento foi de 15 dias. Apenas 17,8% dos pacientes recebeu tratamento empírico e 80% dos que tinham histoplasmose e não receberam tratamento, morreram. Comparados com pacientes sem histoplasmose, aqueles que tinham a doença possuíam CD4 mais baixo (32 x 45 células/ $\mu$ L) e maior mortalidade em 30 dias (24,8% x 9,3%).

No Brasil, 4 publicações avaliaram fatores de risco e prognósticos de histoplasmose disseminada associada ao HIV. Em 2007, estudo realizado na cidade de Fortaleza avaliou 378 pacientes com HIV, sendo 164 com histoplasmose disseminada e 214 com outras doenças oportunistas<sup>48</sup>. Pacientes com histoplasmose tiveram maior frequência de insuficiência renal aguda, insuficiência respiratória e choque séptico, além de terem maior mortalidade (31% x 14%). Fatores de risco independentes para histoplasmose disseminada foram insuficiência renal aguda, esplenomegalia, insuficiência respiratória, proteinúria, hipotensão, hepatomegalia, lesões cutâneas e perda de peso. Na mesma cidade, em 2018, 117 pacientes com HIV, febris, internados, foram avaliados em relação à hipótese de histoplasmose disseminada<sup>57</sup>. Dos 117 incluídos, 41% confirmaram a hipótese. Temperatura  $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ , *rash* papular ou máculo-papular, esplenomegalia, hepatomegalia, sibilância, hemoglobina  $\leq 9,5$  g/dL, contagem de plaquetas  $\leq 80000/\mu\text{L}$ , CD4  $\leq 75$  células/ $\mu\text{L}$ , aspartato aminotransferase  $\geq 2,5$  vezes o limite superior da normalidade, lactato desidrogenase  $\geq 5$  vezes o limite superior da normalidade e uma taxa normalizada internacional (*international normalized ratio – INR*)  $> 2$  vezes o limite superior da normalidade foram associadas com histoplasmose disseminada. Após na análise multivariada, hepatomegalia, CD4  $\leq 75$  células/ $\mu\text{L}$ , lactato desidrogenase  $\geq 5$  vezes o limite superior da normalidade e *rash* papular ou máculo-papular constituíram-se em fator de risco independente para essa doença.

No estudo já citado de Falci *et al*<sup>9</sup>, realizado em vários centros no Brasil, alguns achados foram positivamente relacionados com a existência de histoplasmose: CD4  $< 50$  células/ $\mu\text{L}$ , não uso de ARV e coleta na região nordeste do país. Dispneia no início do quadro foi associada com maior mortalidade e histoplasmose foi mais frequente que tuberculose em pacientes com CD4 mais baixo. Pacientes com diagnóstico obtido através da realização de pesquisa de antígeno urinário tiveram mortalidade menor do que os diagnosticados pelas metodologias convencionais (14,3% x 22,1%, respectivamente). A tabela 2 relata as variáveis associadas com histoplasmose provável ou comprovada.

Tabela 2: Modelo multivariado para predição clínica de histoplasmose provável ou confirmada em pessoas vivendo com HIV/AIDS. Adaptado de Falci DR *et al.*<sup>9</sup>

Variável clínica	Razão de chances (intervalo de confiança 95%)
CD4<50 células/ $\mu$ L	2,11 (1,17-3,82)
Pancitopenia	1,79 (1,00-3,21)
Imagem do tórax com infiltrado miliar	2,72 (1,35-5,46)
Hepatomegalia ao exame clínico	2,47 (1,28-4,76)
Linfadenopatia generalizada	0,37 (0,11-0,96)
Desidrogenase láctica > 1000 UI/L	3,60 (1,94-6,69)

Estudo de Hoffmann ER *et al.*<sup>23</sup>, realizado em vários centros da cidade de Porto Alegre, fez a avaliação de preditores diagnósticos considerando dois padrões de diagnóstico: o primeiro, usando o teste de antígeno urinário e o segundo os métodos diagnósticos clássicos. Nos dois casos, apenas a presença de úlceras orais se associou com o diagnóstico de histoplasmose disseminada. Outras variáveis importantes foram sintomas pulmonares, linfadenopatias mediastinais e lesões de pele (pápulas).

## 2.5. Criptococose

A criptococose é uma micose de distribuição mundial, com uma grande variedade de apresentações clínicas, causada por leveduras encapsuladas patogênicas do gênero *Cryptococcus*. Há duas espécies de *Cryptococcus* que comumente causam doenças em humanos: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*, sendo a primeira fortemente associada a imunossupressão. A infecção por esse fungo acontece primariamente pela inalação de leveduras ou basidiósporos provenientes de reservatórios ambientais e que se depositam nos alvéolos pulmonares. Após a inalação, a infecção pode resolver-se imediatamente, mas em alguns indivíduos ela persiste de forma latente em linfonodos torácicos e granulomas pulmonares. Com o aparecimento de imunossupressão, especialmente em pacientes com AIDS, as leveduras multiplicam-se e se disseminam para outros sítios. A meningite criptocócica é a manifestação clínica mais importante de criptococose. É uma doença que habitualmente evolui de forma subaguda, causando cefaleia, febre, letargia, perda de memória, alterações de nervos cranianos, sintomas visuais, tais como como diplopia e baixa acuidade visual, além de sinais de

irritação meningorradicular<sup>58</sup>. Sem tratamento, a doença pode evoluir com convulsões, depressão do nível de consciência e coma<sup>13</sup>. Hipertensão intracraniana e hidrocefalia são complicações que exigem atenção e tratamento imediatos, uma vez que podem determinar a morte do indivíduo<sup>59</sup>. A coleta de líquido é fundamental para o diagnóstico, sendo característicos o aumento de leucócitos, com predomínio de linfócitos, elevação de proteínas e glicose baixa. Frequentemente, contudo, o líquido é normal<sup>60</sup>.

O diagnóstico definitivo de criptococose é feito a partir do crescimento do fungo em cultura de espécimes clínicos ou da sua visualização direta em líquidos corporais através da coloração com tinta da China. Análise histopatológica também pode confirmar o diagnóstico<sup>58</sup>. Cultura é o padrão-ouro de confirmação do diagnóstico de doença criptocócica, inclusive de meningite, mas seu tempo de realização é prolongado, podendo levar 1 a 2 semanas até o resultado definitivo. A realização de cultura quantitativa, embora seja mais disponível em ambiente de pesquisa, fornece informações importantes sobre prognóstico e é útil no acompanhamento da resposta ao tratamento<sup>61</sup>. O exame direto com coloração de tinta da China, embora seja um meio barato, rápido e não sofisticado para confirmação, tem sensibilidade insuficiente<sup>13</sup>, entre 60 e 80%, e dependente da carga de fungos envolvida na doença e da experiência de quem o realiza. No caso de meningite criptocócica, o espécime a ser analisado é o líquido e, para isso, necessita-se a realização de punção lombar. Deve-se ressaltar novamente que na América Latina a disponibilidade de laboratórios para realização de exames micológicos é pequena<sup>24</sup>.

Métodos moleculares, embora disponíveis, não são habitualmente usados na prática clínica<sup>58</sup>. O painel FilmArray<sup>®</sup> (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, França) para pesquisa de meningite e encefalite inclui a busca por 14 patógenos, entre os quais *Cryptococcus*, tendo uma sensibilidade de 96% (IC95% 83%-99%) quando a amostra tem mais do que 100 unidades formadoras de colônia do fungo por mililitro de líquido. A especificidade é de 100%<sup>62</sup>. A exigência de recursos para esse tipo de análise, contudo, é ainda maior do que a necessária para exames micológicos.

#### 2.5.1. Detecção de antígenos para diagnóstico de meningite criptocócica em pacientes com HIV

A detecção de antígeno se tornou uma ferramenta diagnóstica essencial para o manejo de meningite criptocócica. Esse tipo de pesquisa pode ser feito no líquido, soro, plasma, sangue total e urina e baseia-se na utilização de anticorpos monoclonais através de diversas

metodologias: aglutinação pelo látex (“*látex agglutination*” – LA), ELISA e, mais recentemente, LFA<sup>63</sup>. Conforme *guideline* de 2018 da OMS<sup>14</sup>, seu uso atualmente está entre as recomendações de primeira linha para diagnóstico de meningite criptocócica.

LA e ELISA são técnicas disponíveis já há vários anos e tem utilização bastante disseminada, tanto para aplicação em amostras de sangue, quanto de líquido, possuindo elevadas taxas de sensibilidade e especificidade: 93% a 100 % e 93% a 98%, respectivamente<sup>64, 65</sup>. Podem acontecer falso-positivos, usualmente com titulações de 1:8 ou menos, e falso-negativos, por efeito prozona (que pode ser corrigido através da diluição do material a ser analisado), má conservação da amostra, doenças com baixa carga de fungos, meningites crônicas e nas fases iniciais da infecção. A realização desses testes, embora não necessite de um laboratório especializado em micologia, exige estrutura laboratorial e, portanto, profissionais capacitados, eletricidade estável, controle de temperatura, cadeia de suprimentos articulada e refrigeração dos reagentes. Em países de baixos recursos, tais elementos podem não estar disponíveis<sup>66</sup>.

A pesquisa de antígeno criptocócico através de LFA, aprovada pelo FDA em 2011 (IMMY, Norman, Oklahoma), é um ensaio imunocromatográfico em fita-teste que pode fazer análise qualitativa e semiquantitativa. Se o antígeno está presente no sangue, soro, plasma ou líquido a ser avaliado, ele se liga aos anticorpos anti-criptococo presentes na fita e determina o aparecimento de uma linha visível. Os insumos para realização não precisam de refrigeração e o resultado está disponível em cerca de 10 min. Profissionais da saúde capacitados, mesmo sem treinamento específico de laboratório, podem realizar o exame em ambulatório ou à beira-leito, ou seja, não tem necessidade de infraestrutura laboratorial e tem a possibilidade de ser realizado em situação *point-of-care* (POC). Merece destaque uma iniciativa bem-sucedida dos Médicos Sem Fronteiras no Lesoto, na qual leigos foram treinados para realizar o teste<sup>67</sup>. Em virtude dessas características, esse teste modificou o panorama de diagnóstico da meningite criptocócica.

Em um grande estudo de validação na África do Sul e Uganda, 832 pessoas com HIV foram submetidas a testes para diagnóstico de meningite criptocócica. O teste LFA teve o melhor desempenho, com uma sensibilidade de 99,3% e especificidade de 99,1% em análise do líquido. Testes de pesquisa de antígeno, seja por LA ou LFA, foram mais sensíveis que cultura. O teste LFA identificou 6 casos que não seriam detectados por outros métodos<sup>66</sup>.

Existem atualmente cinco fabricantes de pesquisa de antígeno criptocócico por LFA. O primeiro, da *IMMY Diagnostics* (IMMY, Norman, Oklahoma, EUA) é aprovado pelo FDA no seu país de origem e possui marcação CE na União Europeia, além de ter sido validado em numerosos estudos em vários locais. O segundo é o *Biosynex CryptoPS LFA*<sup>®</sup> (Biosynex, Ilha de França, Paris, França), que possui marcação CE, mas foi avaliado em apenas um estudo, realizado em Camarões. Foram testadas 186 amostras de soro/plasma e 23 de líquido. Quando comparado com o teste IMMY, teve uma sensibilidade de 78% no soro (11/14), 92% no plasma (11/12) e 100% no líquido (4/4). A especificidade foi de 100% em todas os espécimes<sup>68</sup>. O terceiro teste é o *StrongStep*<sup>®</sup> (Liming Bio, Nanjing, Jiangsu, China). Num estudo de validação com dois centros em Uganda, 143 amostras de líquido e 167 de plasma foram analisadas e comparadas com o teste IMMY e com cultura. O teste teve melhor desempenho no líquido, com 100% de sensibilidade (101/101) e 98% de especificidade (41/42). No plasma, contudo, a especificidade foi de 90% (101/112) e a sensibilidade de 98% (54/55). A limitada especificidade no plasma, num contexto de rastreamento de criptococose e prevalência de 9%, significaria um valor preditivo positivo de apenas 50%<sup>69</sup>. O quarto é o teste *Dynamiker LFA*<sup>®</sup> (SSI Diagnostica, Hillerod, *Hovedstaden*, Dinamarca). Um estudo com sua utilização foi apresentado no 28º Congresso Europeu de Microbiologia Clínica e Doenças Infecciosas, em 2018<sup>70</sup>: foram avaliadas 11 amostras de soro e 14 de líquido, sendo realizados o próprio teste, LA e o teste IMMY LFA em todas as amostras. Os testes LFA foram avaliados atribuindo-se graus de intensidade à reação observada, variando de negativo até “três cruces”. Quando utilizado LA como padrão-ouro e interpretados como negativos os testes sem reação e os com reação uma cruz, a sensibilidade e a especificidade do teste *Dynamiker*<sup>®</sup> foram de 100%. Também foi publicada recentemente uma avaliação clínica deste teste que incluiu 354 pessoas na Turquia, sendo 254 com HIV e 100 controles sem o vírus<sup>71</sup>. Foi verificada uma prevalência de teste positivo de 11%, porém o estudo não fez comparação desta metodologia com nenhuma das outras disponíveis. O quinto teste LFA chama-se *FungiXpert* (Tianjin Era Biology Engineering Co., Tianjin, China), porém não foram encontradas publicações a seu respeito.

Além da óbvia utilização em amostras de líquido, o teste para pesquisa de antígeno realizado no sangue também tem papel no diagnóstico de meningite criptocócica. A obtenção pelo menos de um diagnóstico presuntivo antes da realização de punção lombar permite que, nos casos em que se suspeita de hipertensão intracraniana, o procedimento seja feito com intenção não apenas diagnóstica, mas também terapêutica. Essa medida pode ser útil especialmente em contextos em que a realização de punção e a medida da pressão intracraniana



são pouco disponíveis<sup>72</sup>. O desempenho do teste IMMY realizado através de amostra de sangue capilar obtida por punção digital foi avaliado nesse contexto<sup>73</sup>. Foi analisado sangue coletado antes da realização de punção lombar em pacientes com suspeita de meningite e comparado o resultado de LFA neste espécime com a pesquisa realizada posteriormente no líquido. O valor preditivo positivo do teste no sangue foi de 100%, com detecção de 93% dos casos de meningite. Os 7% em que o teste foi positivo no sangue e negativo no líquido tiveram teste no soro/plasma positivo. Não eram, portanto, exatamente falso-positivos, mas casos de infecção criptocócica no sangue. O teste teve, portanto, uma concordância de 100% com os resultados no soro e no plasma e um valor preditivo negativo de 100% para excluir meningite criptocócica.

Um estudo brasileiro de 2018 avaliou pacientes com um primeiro episódio de meningite criptocócica para determinar o desempenho da pesquisa de LFA no líquido, soro, sangue total e urina para diagnóstico de meningite criptocócica<sup>74</sup>. Foram incluídos 21 pacientes com diagnóstico confirmado por cultura. A pesquisa por LFA foi positiva no líquido, soro e sangue em 19 pacientes (sensibilidade de 95%). Dezesesseis amostras de urina tiveram teste positivo (sensibilidade de 80%). Para avaliação da especificidade, foram testados 36 pacientes com HIV e outras doenças do sistema nervoso central. Nenhum deles teve teste positivo no soro, determinando, portanto, uma especificidade de 100%.

2.5.2. Detecção de antígenos por LFA para rastreamento de criptococose em pacientes com HIV

2.5.2.1. Diagnóstico precoce de meningite.

A maioria das pessoas com meningite criptocócica apresenta algum tipo de sintoma característico, além de testes positivos no líquido e no sangue. Existe uma parcela de pacientes, contudo, que tem sintomas de meningite e possui pesquisa de antígeno por LFA no sangue positiva, porém cultura e pesquisa no líquido negativa. Esse perfil de paciente representou cerca de 4% dos incluídos numa coorte em Uganda<sup>75</sup>. O mais provável é que se trate de pessoas com meningite em estágio precoce. A mortalidade observada nesses casos é da ordem de 39%, comparável à de pessoas que tiverem uma doença de evolução inicial agressiva. Sendo assim, sua identificação é importante para o adequado manejo e tratamento antifúngico.

Estudo realizado na Argentina encontrou uma prevalência de pesquisa de antígeno positiva de 8,1% entre 123 pessoas com HIV analisadas<sup>76</sup>. A existência ou não de sintomas não foi critério de inclusão ou exclusão na pesquisa. Entre as 10 pessoas com pesquisa positiva, em

6 a realização de análise do líquido demonstrou presença de meningite (exame direto, cultura ou antígeno positivo no líquido). Três desses pacientes eram assintomáticos, ou seja, em metade dos pacientes com meningite o diagnóstico só foi possível a partir da realização de LFA.

#### 2.5.2.2. Rastreamento com pesquisa de antígeno criptocócico

Conforme a região considerada, a prevalência de antigenemia criptocócica em pessoas assintomáticas infectadas pelo HIV com doença em estágio avançado varia de 1% a 15%<sup>10</sup> (Figura 5). Antígeno criptocócico pode ser detectado no sangue semanas a meses antes do início dos sintomas de meningite e sua presença é um fator preditor independente dos desfechos meningite e morte<sup>77, 78, 79</sup>. No estudo de Liechty *et al.*, ainda em 2007<sup>77</sup>, após controle de possíveis fatores confundidores, o risco relativo de morte em 12 semanas foi de 6,6 (IC95% 1,86-23,61, pesquisa através de LA, títulos  $\geq 1:2$  e  $CD4 \leq 100$  células/ $\mu$ L). O risco atribuível de morte associado à presença do antígeno foi de 18% (IC 2%-33%), semelhante do da tuberculose (19%, 1%-36%). Na América Latina, a primeira avaliação a respeito o foi feita no Peru<sup>79</sup>. Foi verificada uma prevalência de antígeno positivo de 3,6% (IC 95% 2%-6%) e sua presença previu de forma significativa o aparecimento de meningite ( $p = 0,0001$ ). Avaliando a associação de pesquisa positiva por LFA e um desfecho composto de morte ou perda de seguimento em pessoas com  $CD4 \leq 150$ , Letang *et al.* relataram uma prevalência de 4,4% no estrato de  $CD4 < 100$  células/ $\mu$ L e 2,2% na faixa de 100-150 células/ $\mu$ L, sendo a pesquisa positiva um preditor independente do desfecho composto (*hazard ratio* 2,5, IC95% 1,29-4,83,  $p = 0,006$ )<sup>80</sup>.

Entre pacientes internados, estudo de 2016 demonstrou uma prevalência de antígeno positivo significativamente maior do que em ambulatoriais (12% x 5,3%,  $p = 0,02$ ), chamando a atenção para a importância desse perfil de pacientes<sup>81</sup>.

Fazer terapia preemptiva com fluconazol em dose alta nas pessoas com antigenemia positiva e sem meningite previne mortalidade. Essa possibilidade foi avaliada em um ensaio clínico que incluiu 1999 pessoas com doença do HIV em estágio avançado ( $CD4 < 200$  células/ $\mu$ L) na África Subsaariana, demonstrando um benefício de sobrevivência de 28% (13% x 18%) com a combinação de rastreamento, administração de terapia preemptiva e cuidados

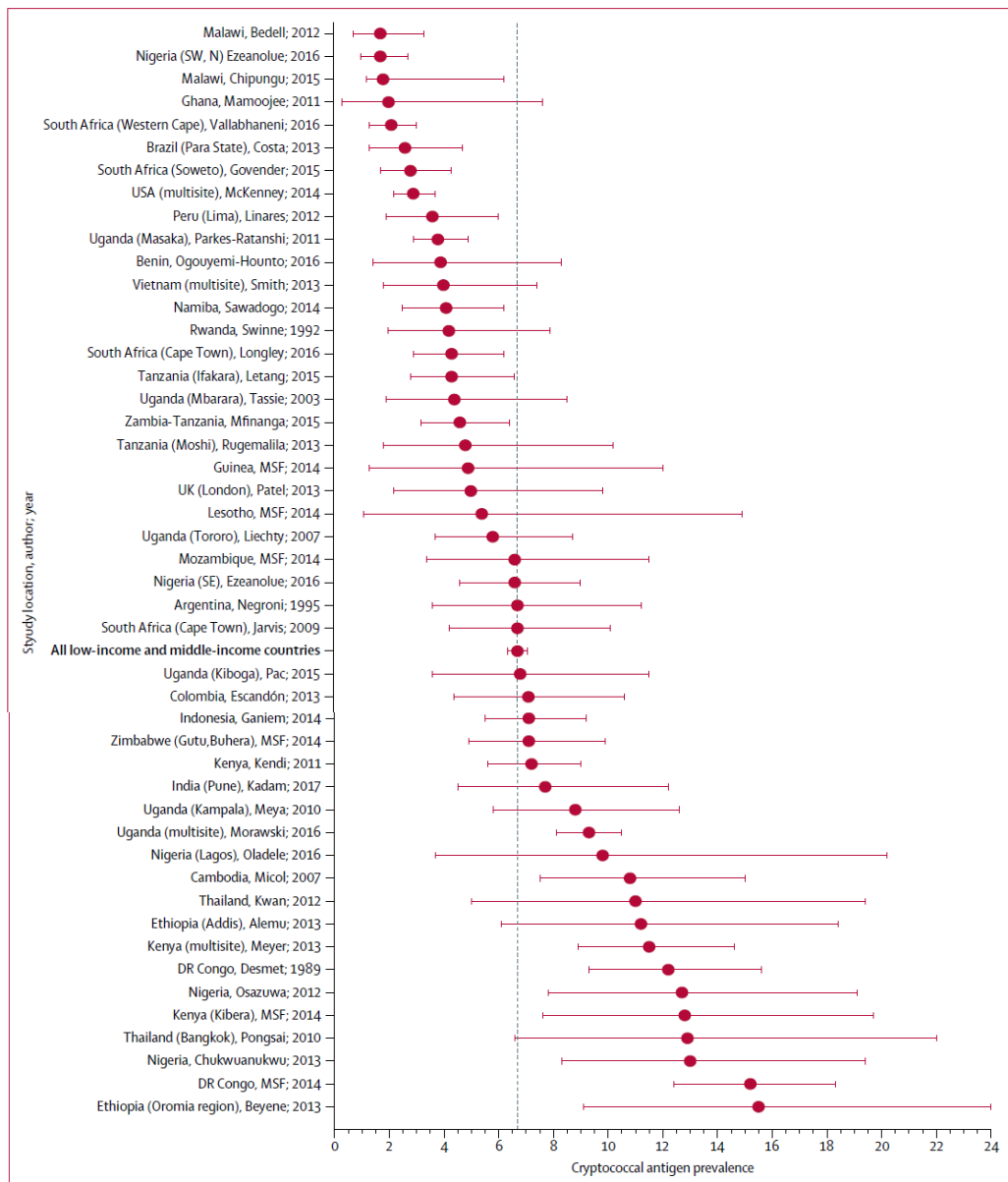


Figura 4: Diagrama resumindo os estudos de prevalência de antigenemia criptocócica em pacientes infectados pelo HIV de 1989 a 2016. Reproduzido de Rajasingham *et al.*<sup>10</sup>

diferenciados da equipe de saúde para garantir a adesão<sup>82</sup>. Em 2019, Meya *et al* publicaram dados de um ensaio clínico que avaliou a estratégia de rastreamento seguida de terapia preemptiva e concluíram que ela funcionou em pacientes com títulos < 1:160, nos quais a mortalidade foi semelhante à de pessoas com pesquisa negativa<sup>83</sup>. No estudo já referido de Letang *et al.*<sup>80</sup>, o uso de fluconazol se associou com diminuição significativa do risco de morte (redução de 82% no primeiro ano de seguimento, IC95% 22%-92%,  $p = 0,022$ ). Um estudo de caso-controle de Tufa *et al.* mostrou que a mortalidade de pacientes com antígeno positivo

tratados com fluconazol foi semelhante à de pessoas com pesquisa negativa<sup>84</sup>. Essa medida, inclusive, está recomendada no já citado *guideline* da OMS para diagnóstico, prevenção e manejo de meningite criptocócica<sup>14</sup>.

Para se analisar a morbimortalidade em pacientes com pesquisa de antígeno positiva e assintomáticos, Wake *et al.* conduziram um estudo de coorte na África do Sul. Houve diferença significativa de mortalidade entre pessoas com pesquisa negativa e positiva, mesmo tendo-se oferecido terapia preemptiva para os positivos. O grupo com pesquisa positiva teve mortalidade de 25%, enquanto no grupo com pesquisa negativa a taxa foi de 9% (*hazard ratio* 3,0, IC 95% 1,4-6,7,  $p = 0,006$ ). Todos os pacientes com pesquisa positiva que morreram foram avaliados em relação à presença de meningite criptocócica. Das 17 mortes que aconteceram nesse grupo, em 11 houve contribuição de doença criptocócica, sendo que em 5 ela foi a causa imediata e em 7 uma causa secundária da morte. Entre esses 17 óbitos, foi possível realizar biópsia minimamente invasiva em 4, tendo sido encontrada cultura positiva do líquido em todos eles<sup>85</sup>. Dessa forma, mesmo em pacientes assintomáticos, a própria criptococose causa morbimortalidade elevada.

2.5.2.3. Avaliação da prevalência de antígeno criptocócico conforme estrato de CD4 e em pacientes com falha virológica

Uma revisão sistemática e meta-análise publicada em 2018<sup>86</sup> estimou a prevalência de antígeno criptocócico conforme o estrato de CD4 a partir da análise de 60 estudos. A prevalência combinada foi de 6,5% na faixa de  $CD4 \leq 100$  células/ $\mu$ L (IC95% 5,7%-7,3%, 54 estudos) e de 2,0% na faixa de 101-200 células/ $\mu$ L (IC95% 1,2%-2,7%, 21 estudos). Vinte e um estudos ofereceram informação suficiente para comparar a prevalência por estrato. No geral, 18,6% (IC95% 15,4%-22,2%) dos casos com antígeno positivo na faixa de  $CD4 < 200$  células/ $\mu$ L eram de pessoas com CD4 entre 101 e 200 células/ $\mu$ L, ou seja, acima do limite habitualmente utilizado para recomendar o rastreamento<sup>14</sup>. Além disso, ainda que prevalência tenha sido maior em pacientes internados (9,8%, IC95% 4,0%-15,5%), nos casos ambulatoriais essa medida também foi significativa (6,3%, IC95% 5,3%-7,4%).

Recentemente foi publicada uma avaliação da prevalência de antígeno criptocócico em pacientes com falha virológica<sup>87</sup>. Foi realizado o teste IMMY LFA em amostras de plasma utilizadas para medida de carga viral de 1186 pessoas. Foi definido como critério de falha virológica a presença de carga viral  $\geq 1000$  cópias/mL. A prevalência encontrada foi de 3%. Esses pacientes tinham mediana de tempo de tratamento de 41 meses (variação interquartil 10-

84 meses) e, entre os 25 pacientes em que foi possível avaliar o seguimento de 6 meses, 16 (64%) sobreviveram, 7 (29%) morreram e 2 (8%) foram perdidos. Um dos sobreviventes havia tido um episódio de meningite criptocócica 2 anos antes, dois outros tiveram a doença após a testagem e sobreviveram. No geral, 91% (32/35) dos pacientes com pesquisa positiva tinham carga viral  $\geq 5000$  cópias/mL, enquanto 64% dos que tiveram pesquisa negativa tinham carga viral acima desse valor (*odds ratio* 6, IC95% 1,8-19,8). A prevalência de antígeno positivo foi de 4,2% nas pessoas com carga viral  $\geq 5000$  cópias/mL e 0,7% entre as que tinham carga viral  $< 5000$  cópias/mL. Esse perfil de pacientes, portanto, também pode ser considerado para realização de rastreamento.

#### 2.5.2.4. Importância da titulação no rastreamento

Tanto LA, quanto LFA podem ser feitos de forma semiquantitativa através da titulação da amostra. A titulação é feita com o mesmo material de diluição e considera-se positiva a última titulação antes testagem da negativa. Titulações de diferentes metodologias e de diferentes fabricantes não são comparáveis<sup>66</sup>. A titulação destes testes é capaz de prever a ocorrência de meningite e de morte, conforme demonstrado em quatro coortes<sup>80, 88-90</sup>. Titulações  $\leq 1:80$  com o teste IMMY LFA preveem uma probabilidade extremamente baixa de meningite<sup>88, 89</sup>. Na medida que as titulações aumentam de 1:160 a 1:320 para 1:640, a probabilidade de envolvimento do sistema nervoso central aumenta<sup>89</sup>. Títulos maiores do que 1:1280 significam envolvimento quase universal deste sistema. Rajasingham *et al*<sup>72</sup> fizeram uma análise combinada das quatro coortes citadas acima para avaliar o efeito da titulação na probabilidade de sobrevida quando foi usada terapia preemptiva com fluconazol. Foi feita uma análise separando titulações consideradas baixas ( $<1:160$ ), médias (1:160 a 1:2560) e altas ( $>1:2560$ ). A possibilidade de sobrevida diminuiu na medida que a titulação aumentou (*log-rank*  $P < 0,0001$ ) (figura 5). Entre pessoas assintomáticas com testagem positiva, títulos  $\geq 1:160$  estão associadas com aumento de mortalidade, independentemente de terem ou não recebido terapia preemptiva com fluconazol<sup>80, 90</sup>.

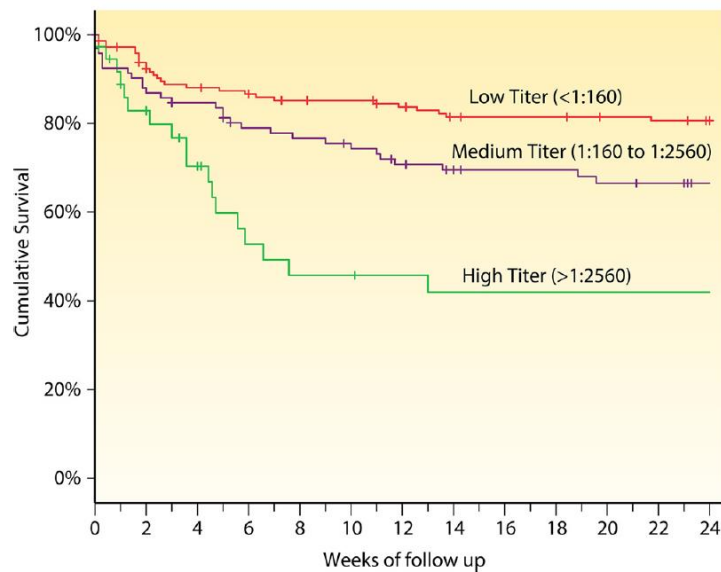


Figura 5: Análise de sobrevivência de acordo com a titulação do teste LFA em 287 pessoas infectadas pelo HIV com pesquisa de antígeno criptocócico positiva em 4 coortes da Etiópia, África do Sul, Tanzânia e Uganda. Reproduzido de Rajasingham *et al.*<sup>72</sup>

#### 2.5.2.5. Métodos de rastreamento

Pode-se realizar rastreamento de antígeno criptocócico através de 2 métodos. O primeiro é a realização de teste laboratorial reflexivo (“*reflexive laboratory testing*”). Com essa alternativa, a pesquisa é feita em laboratório, rotineiramente, nas amostras de plasma obtidas para realização de CD4, quando a contagem destas células é menor que o limite estabelecido para o rastreamento. A decisão de realizar ou não o teste, portanto, não é da equipe que presta assistência direta ao paciente, mas segue um protocolo do laboratório onde os exames são realizados. O resultado da pesquisa é relatado junto com o resultado do CD4, com uma breve explicação do seu significado. A outra opção de se fazer rastreamento é com a realização do teste a partir da solicitação da equipe assistencial quando ela identifica a contagem de CD4 abaixo limite mínimo estabelecido para o rastreamento. Em avaliação realizada na África do Sul, apenas 27% dos pacientes elegíveis foram testados quando a segunda metodologia utilizada. Já quando o exame foi realizado por definição de protocolo do laboratório, mais de 95% das pessoas elegíveis foram avaliadas<sup>91</sup>. Um aspecto a ser analisado na eventual definição sobre que metodologia é mais apropriada é a celeridade com que o resultado da testagem ficará disponível para embasar condutas clínicas. Dependendo do contexto de infraestrutura e processos assistenciais, exames realizados em laboratório, ou seja, fora do local de atendimento,

podem levar muito tempo para ser disponibilizados. Além disso, realizar o teste LFA em situação POC é uma das principais vantagens dessa metodologia.

#### 2.5.2.6. Avaliação de custo-efetividade do rastreamento

Muitos estudos avaliaram a custo-efetividade do rastreamento de antígeno criptocócico em pacientes com doença do HIV em estágio avançado. Dois estudos africanos avaliaram essa relação em contexto de prevalência tão baixa quanto 0,6% e com testes custando entre US\$ 3,69 e 6,03, ambos demonstrando que a estratégia é custo-efetiva<sup>92, 93</sup>. Um estudo no Malawi relatou um custo por caso detectado de US\$ 100,60<sup>94</sup>. Em Uganda, publicações relataram um custo de US\$ 28,40 para detectar uma pessoa com pesquisa de antígeno positivo e de US\$ 39,70 para salvar uma vida<sup>78, 95</sup>. Já no Vietnã, um estudo demonstrou que a relação varia de forma significativa, com um custo por ano de vida salvo ficando entre US\$ 4 e US\$ 296<sup>96</sup>. No Brasil, quando o rastreamento foi feito em pessoas com CD4 < 200 células/ $\mu$ L, o custo por vida salva foi de US\$ 326 (IC95% US\$ 91-US\$ 2685)<sup>97</sup>. Recentemente, foram publicados dados de custo-efetividade da estratégia de oferecer rastreamento, terapia preemptiva e medidas de suporte adotada na Tanzânia e na Zâmbia<sup>98</sup>. A taxa incremental de custo-efetividade da intervenção, quando comparada com o padrão de cuidado, por ano de vida salvo, foi de US\$ 70 (IC95% US\$ 43-US\$ 211) para os participantes com CD4 < 200 células/ $\mu$ L e de US\$ 91 (IC95% US\$ 49-US\$ 443) para aqueles com CD4 < 100 células/ $\mu$ L.

#### 2.5.3. Epidemiologia da criptococose associada ao HIV

A doença causada por *Cryptococcus neoformans* é uma das micoses mais frequentes em indivíduos vivendo com HIV. Uma estimativa sobre a ocorrência global da doença em 2014 foi publicada em 2017<sup>10</sup>. Ela revelou uma prevalência global de antigenemia criptocócica entre pessoas com HIV e CD4 < 100 células/ $\mu$ L de 6% (IC95% 5,8%-6,2%), havendo, portanto, 278000 pessoas com antígeno positivo (IC95% 195500-340600 pessoas). Houve 223100 casos incidentes de meningite criptocócica (IC95% 150600-282400 casos) e aconteceram 181000 mortes (IC95% 119400-234300 mortes). Para a América Latina, o total de pessoas estimado com antígeno positivo foi de 7000 (IC95% 3600-11100 pessoas) e teriam ocorrido 5300 casos de meningite (IC95% 2600-8900 casos), redundando em 2400 mortes (IC95% 1100-4400 mortes). Dados mundiais em relação à prevalência de antígeno criptocócico estão sumarizados na figura 5.

Alguns dados sugerem que a ocorrência de meningite criptocócica no Brasil vem diminuindo. Uma avaliação dos casos registrados no Centro de Referência em Treinamento em

DST/AIDS da cidade de São Paulo mostra um declínio significativo do número de casos, tendo sido reportados 500 casos em 1992 e apenas 82 em 2010. Esse cenário, contudo, é o de um serviço bem estruturado de acesso à TARV e, certamente, não pode ser generalizado. Apesar desse dado específico, a doença segue sendo a principal causa de meningite oportunista, com mortalidade elevada. Outro fator relevante é que as desigualdades do país são grandes, fazendo com que o HIV e as doenças oportunistas causadas por ele afetem de forma desproporcionalmente mais alta pessoas em situação socioeconômica menos favorável<sup>21</sup>.

A prevalência de antígeno criptocócico foi avaliada em três estudos brasileiros. O primeiro, publicado em 2013 e utilizando LA, testou 418 pacientes internados, independente da contagem de CD4, no estado do Pará. Foram incluídas pessoas de 2 centros na cidade de Belém. A prevalência geral relatada foi de 2,6%. Deve-se destacar que cerca de 85% dos pacientes analisados tinham CD4 > 200 células/ $\mu$ L e que 55% (6/11) dos testes positivos foram de pessoas nessa faixa de contagem. A prevalência em pacientes com CD4 < 200 células/ $\mu$ L, portanto, foi de 8,3%<sup>99</sup>. Vidal JE *et al.* avaliaram a prevalência de antígeno criptocócico em pacientes com CD4 < 200 células/ $\mu$ L hospitalizados num centro de referência da cidade de São Paulo. Cento e sessenta e três pacientes sem histórico prévio de doença criptocócica e sem suspeita clínica de meningite foram testados com LFA, sendo a prevalência encontrada de 3,1% (IC95% 1,0%-7,0%)<sup>74</sup>. Em estudo recentemente publicado, que avaliou pacientes do estado de Goiás, internados e ambulatoriais, independente da presença de sintomas, mas com CD4 < 200 células/ $\mu$ L, foi verificada uma prevalência geral de 7,9%<sup>100</sup>. Embora não se tenha encontrado diferença estatisticamente significativa, a prevalência de antígeno positivo na faixa de CD4 entre 101 e 200 foi maior do que na faixa  $\leq$  100 (7,1% (IC95% 4,7%-12,4%) x 9,1% (IC95% 3,4%-19,0%)). Entre assintomáticos, a prevalência foi de 5,3% (IC95% 1,4%-13,1%).

#### 2.5.4. Fatores de risco e prognósticos em criptococose associada ao HIV

Vários fatores de risco associados com falha terapêutica e morte por meningite criptocócica já foram descritos em estudos prévios<sup>101-105</sup>. Em relação à mortalidade, os fatores de risco mais importantes são carga de fungos envolvida na doença, titulação do teste antigênico no diagnóstico, taxa de eliminação do fungo, alteração do estado mental, celularidade baixa no líquido, alteração em exame de imagem do sistema nervoso central, hipertensão intracraniana no momento da admissão, não realização de punções lombares para controle da hipertensão intracraniana, infecção disseminada e duração dos sintomas.



O estudo brasileiro recentemente publicado e citado acima<sup>100</sup> não encontrou parâmetros clínicos, laboratoriais ou sociodemográficos que fossem capazes de prever a presença de antígeno positivo. Em Uganda, com realização de rastreamento com  $CD4 \leq 100$  células/ $\mu L$  e prevalência de antígeno positivo de 6,8%, além da própria presença de antígeno positivo, se associaram com maior mortalidade o sexo masculino, hemoglobina  $\leq 10$  g/dL, índice de massa corporal  $\leq 15,5$  kg/m<sup>2</sup> e a coinfeção com tuberculose<sup>106</sup>. Na Tanzânia, além da presença de antígeno e da ocorrência de meningite criptocócica, também se encontraram como fator de risco independente para morte ou perda de seguimento o não início de TARV, a presença de tuberculose e anemia<sup>81</sup>.

### 3. MARCO CONCEITUAL

A infecção pelo vírus HIV, em seu estágio avançado, predispõe ao aparecimento de doenças oportunistas. Entre essas doenças, criptococose e histoplasmose são bastante frequentes. Ambas doenças causam morbimortalidade elevada. Em relação à criptococose, o rastreamento através da pesquisa de antígeno do fungo no sangue permite reduzir essa morbimortalidade. Nas duas doenças, a pesquisa de antígeno do fungo permite diagnóstico mais precoce do que quando são utilizadas metodologias convencionais. A figura 6 resume as inter-relações entre esses elementos.

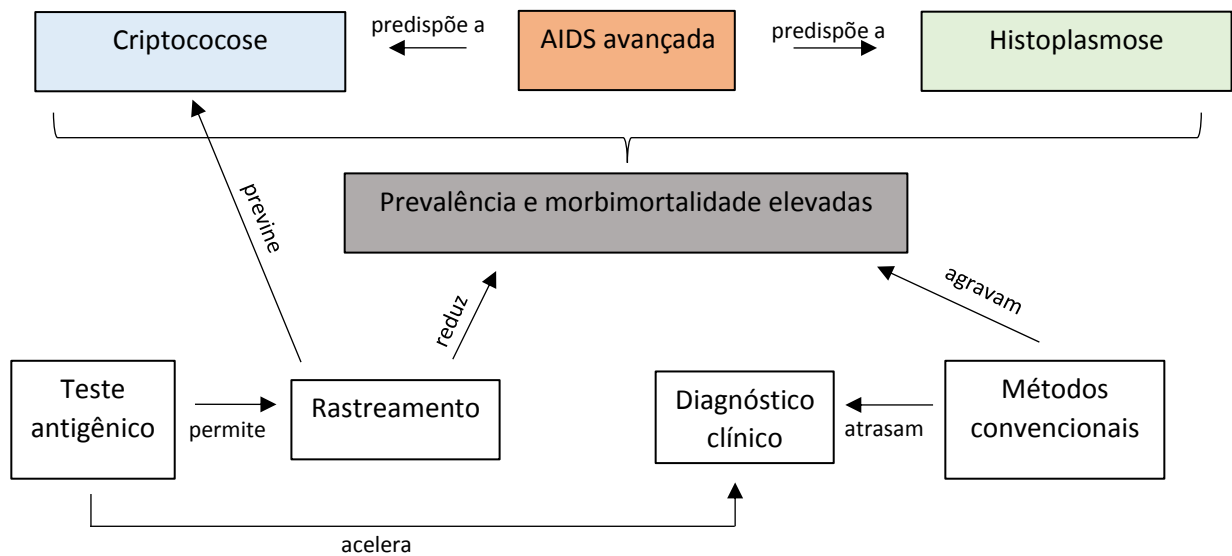


Figura 6. Marco conceitual da epidemiologia da histoplasmose e da criptococose e da utilização dos testes antigênicos para diagnóstico e rastreamento

#### 4. JUSTIFICATIVA

Com o advento e disseminação da terapia antirretroviral altamente ativa, foi possível observar no mundo todo uma diminuição da incidência e da mortalidade da doença causada pelo vírus HIV. No Brasil, inclusive, o acesso a esse tratamento é universal e gratuito no sistema público de saúde. Tais benefícios determinaram um aumento da prevalência dessa infecção. Na medida que não se observaram avanços significativos na direção do diagnóstico precoce, o contexto atual faz com que ainda exista um grande número de pessoas em situação de risco para o aparecimento de doenças oportunistas.

Criptococose e histoplasmose são doenças ainda bastante comuns, que tem quadro clínico inespecífico e acontecem em pessoas com grau avançado de imunossupressão. Dessa forma, são responsáveis por morbimortalidade significativa. Baixa suspeição, indisponibilidade de recursos para investigação, como punção lombar e biópsia de medula óssea, além da demora para realização dos métodos convencionais de investigação colaboram para essa situação. A confirmação dessas doenças através de exame direto tem sensibilidade insuficiente e requer coleta de amostras através de métodos invasivos. Já a realização de culturas específicas, embora sejam o padrão-ouro para diagnóstico, precisam de uma infraestrutura laboratorial pouco disponível em países de baixos recursos.

Nesse contexto, o desenvolvimento e disseminação de recursos diagnósticos mais facilmente acessíveis é fundamental para poder-se reduzir a elevada morbimortalidade associada com essas micoses. Testes POC, como a pesquisa de antígeno criptocócico por LFA, tem o perfil mais adequado para isso, mas a possibilidade de realizar diagnóstico sem a necessidade da infraestrutura específica de laboratório de micologia, o que pode ser feito com a pesquisa de HPA na urina, já significa um avanço importante.

Porto Alegre é um dos locais com maior taxa de detecção AIDS do Brasil: 60,8 casos/100 mil habitantes em 2017. Essa taxa é o dobro da taxa do Rio Grande do Sul e 3,3 vezes maior que a taxa nacional. Em relação ao coeficiente de mortalidade por AIDS, Porto Alegre tem o pior resultado entre as capitais do Brasil e o Rio Grande do Sul é o estado com as taxas mais elevadas<sup>15</sup>. O Ministério da Saúde inclui, na avaliação da situação epidemiológica da AIDS, o cálculo do índice composto. Esse índice leva em conta fatores como taxa média de detecção de casos, variação da taxa de detecção, taxa de mortalidade, entre outros. Considerando-se as cidades brasileiras com 100 mil habitantes ou mais, o *ranking* das 100 cidades com pior índice composto inclui Porto Alegre e 8 cidades da sua região metropolitana.

Na medida que criptococose e histoplasmose são reconhecidas como doenças comuns e de elevada morbimortalidade, parte da morbimortalidade associada ao HIV pode dever-se a elas. Conhecer a prevalência, fatores de risco e de prognóstico dessas doenças através de testes que permitem a confirmação mais rápida do seu diagnóstico são iniciativas que podem colaborar significativamente no enfrentamento da doença do HIV nessa região, além de oferecer evidências que podem ser utilizadas também em outros contextos.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. Objetivo primário

Avaliar a prevalência dos antígenos de *H. capsulatum* e de *C. neoformans* em pessoas com HIV, a variação dessa prevalência com a contagem de células CD4 e verificar fatores de risco e prognósticos associados à sua ocorrência.

### 5.2. Objetivos secundários

- Determinar morbidade e mortalidade de pacientes com criptococose e histoplasmose;
- Determinar variáveis clínicas que possam prever a ocorrência de meningite criptocócica e histoplasmose disseminada, assim como fatores prognósticos dessas doenças;
- Relacionar outros diagnósticos infecciosos estabelecidos com a ocorrência das doenças fúngicas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. del Rio C, Curran JW, Baden LR, Barouch DH. Epidemiology and Prevention of AIDS and HIV Infection, Including Preexposure Prophylaxis and HIV Vaccine Development. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editores. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2019. P 1599-1618.
2. GBD 2017 HIV collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and mortality of HIV, 1980–2017, and forecasts to 2030, for 195 countries and territories: a systematic analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study 2017. *Lancet HIV* 2019 Aug 19. pii: S2352-3018(19)30196-1. doi: [10.1016/S2352-3018\(19\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(19)30196-1).
3. Miles to go—closing gaps, breaking barriers, righting injustices. Geneva: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 2018. Available from: <http://www.unaids.org/en/resources/documents/2018/global-aidsupdate> (accessed Oct 30, 2019).
4. Anderegg N, Panayidou K, Abo Y, Alejos B, Althoff KN, Anastos K, *et al*. Global trends in CD4 cell count at the start of antiretroviral therapy: collaborative study of treatment programs. *Clin Infect Dis* 2018 Mar 5; 66(6):893-903. doi: [10.1093/cid/cix915](https://doi.org/10.1093/cid/cix915).
5. Buchacz K, Lau B, Jing Y, Bosch R, Abraham AG, Gill MJ, *et al*. Incidence of AIDS-defining opportunistic infections in a multicohort analysis of HIV-infected persons in the United States and Canada, 2000–2010. *J Infect Dis* 2016 Sep 15; 214(6):8862–72. doi: [10.1093/infdis/jiw085](https://doi.org/10.1093/infdis/jiw085).
6. Jarvis JN, Bouille A, Loyse A, Bicanic T, Rebe K, Williams A, *et al*. High ongoing burden of cryptococcal disease in Africa despite antiretroviral roll out. *AIDS* 2009 Jun 1; 23 (9):1182–83. doi: [10.1097/QAD.0b013e32832be0fc](https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32832be0fc).
7. Adenis AA, Valdes A, Cropet C, McCotter OZ, Derado G, Couppie P, *et al*. Burden of HIV-associated histoplasmosis compared with tuberculosis in Latin America: a modelling study. *Lancet Infect Dis*. 2018 Oct; 18(10):1150–9. doi: [10.1016/S1473-3099\(18\)30354-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30354-2).
8. Queiroz-Telles F, Fahal AH, Falci DR, Caceres DH, Chiller T, Pasqualotto AC. Neglected endemic mycoses. *Lancet Infect Dis*. 2017 Nov; 17(11):e367–77. doi: [10.1016/S1473-3099\(17\)30306-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30306-7).

9. Falci DR, Monteiro AA, Braz Caurio CF, Magalhaes TCO, Xavier MO, Basso RP, *et al.* Histoplasmosis, An Underdiagnosed Disease Affecting People Living With HIV/AIDS in Brazil: Results of a Multicenter Prospective Cohort Study Using Both Classical Mycology Tests and Histoplasma Urine Antigen Detection. *Open Forum Infect Dis* 2019 Apr 13; 6(4):ofz073. doi: [10.1093/ofid/ofz073](https://doi.org/10.1093/ofid/ofz073).
10. Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, Jarvis JN, Govender NP, Chiller TM, *et al.* Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *Lancet Infect Dis* 2017 Aug; 17(8):873–881. doi: [10.1016/S1473-3099\(17\)30243-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30243-8).
11. Mora DJ, da Cunha Colombo ER, Ferreira-Paim K, Andrade-Silva LE, Nascentes GA, Silva-Vergara ML. Clinical, epidemiological and outcome features of patients with cryptococcosis in Uberaba, Minas Gerais, Brazil. *Mycopathologia* 2012 Jun; 173 (5-6):321–7. doi: [10.1007/s11046-011-9504-9](https://doi.org/10.1007/s11046-011-9504-9).
12. Wheat LJ, Azar MM, Bahr NC, Spec A, Relich RF, Hage C. Histoplasmosis. *Infect Dis Clin North Am* 2016 Mar; 30(1):207-27. doi: [10.1016/j.idc.2015.10.009](https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.009).
13. Limper AH, Adenis A, Le T, Harrison TS. Fungal infections in HIV/AIDS. *Lancet Infect Dis* 2017 Nov; 17(11):e334–43. doi: [10.1016/S1473-3099\(17\)30303-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30303-1).
14. Guidelines for The Diagnosis, Prevention and Management of Cryptococcal Disease in HIV-Infected Adults, Adolescents and Children. Geneva: World Health Organization, 2018. Available from <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/cryptococcal-disease/en/> (accessed Nov 24, 2019).
15. HIV AIDS 2018. *Boletim Epidemiológico* 2018; 49(53). Brasília, Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde. Available from: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2018/boletim-epidemiologico-hivaid-2018> (accessed Nov 25, 2019).
16. Guarner J. Human immunodeficiency virus and fungal infections. *Semin Diagn Pathol* 2017 Jul; 34(4):325–31. doi: [10.1053/j.semmdp.2017.04.007](https://doi.org/10.1053/j.semmdp.2017.04.007).
17. Pallela F, Delaney KM, Moorman AC. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1998 Mar 26; 338(13):853–860. doi:[10.1056/NEJM199803263381301](https://doi.org/10.1056/NEJM199803263381301).
18. Prabhu S, Harwell IJ, Kumarasamy N. Advanced HIV: diagnosis, treatment, and prevention. *Lancet HIV* 2019 Aug; 6(8):E540–51. doi: [10.1016/S2352-3018\(19\)30189-4](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(19)30189-4).

19. Beardsley J, Wolbers M, Kibengo FM, Ggayi AB, Kamali A, Cuc NT, *et al.* Adjunctive dexamethasone in HIV-associated cryptococcal meningitis. *N Engl J Med* 2016 Feb 11; 374(6):542–54. doi: [10.1056/NEJMoal509024](https://doi.org/10.1056/NEJMoal509024).
20. Lawrence DS, Boyer-Chammard T, Jarvis JN. Emerging concepts in HIV-associated cryptococcal meningitis. *Curr Opin Infect Dis* 2019 Feb; 32(1):16–23. doi: [10.1097/QCO.0000000000000514](https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000514).
21. Vidal JE, Penalva de Oliveira AC, Dauar RF, Boulware DR. Strategies to reduce mortality and morbidity due to AIDS-related cryptococcal meningitis in Latin America. *Braz J Infect Dis* 2013 May-Jun; 17(3):353–62. doi: [10.1016/j.bjid.2012.10.020](https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.10.020).
22. Santos E, Japiassu A, Lazera M, Bozza F. Fungal disease in AIDS patients in intensive care. *Crit Care* 2013; 17 (Suppl 4):17. doi: [10.1186/cc12941](https://doi.org/10.1186/cc12941).
23. Hoffmann ER, Daboit TC, Paskulin DD, Monteiro AA, Falci DR, Linhares T, *et al.* Disseminated histoplasmosis and AIDS: a prospective and multicentre study to evaluate the performance of different diagnostic tests. *Mycoses* 2017 Jan; 60(1):20–4. doi: [10.1111/myc.12536](https://doi.org/10.1111/myc.12536).
24. Falci DR, Pasqualotto AC. Clinical mycology in Latin America and the Caribbean: A snapshot of diagnostic and therapeutic capabilities. *Mycoses* 2019 Apr; 62 (4):368–373. doi: [10.1111/myc.12890](https://doi.org/10.1111/myc.12890).
25. Kauffman CA. Diagnosis of histoplasmosis in immunosuppressed patients. *Curr Opin Infect Dis* 2008 Aug; 21(4):421–5. doi: [10.1097/QCO.0b013e328306eb8d](https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e328306eb8d).
26. Azar MM, Hage CA. Laboratory Diagnostics for Histoplasmosis. *J Clin Microbiol* 2017 Jun; 55 (6):1612–1620. doi: [10.1128/JCM.02430-16](https://doi.org/10.1128/JCM.02430-16).
27. Caceres DH, Knuth M, Derado G, Lindsley MD. Diagnosis of Progressive Disseminated Histoplasmosis in Advanced HIV: A Meta-Analysis of Assay Analytical Performance. *J Fungi (Basel)* 2019 Aug 18; 5(3). doi: [10.3390/jof5030076](https://doi.org/10.3390/jof5030076).
28. Arango-Bustamante K, Restrepo A, Cano LE, Bedout C, Tobón AM, González A. Diagnostic Value of Culture and Serological Tests in the Diagnosis of Histoplasmosis in HIV and non-HIV Colombian Patients. *Am J Trop Med Hyg* 2013 Nov; 89(5):937–942. doi: [10.4269/ajtmh.13-0117](https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0117).



29. Karimi, K, Wheat LJ, Connolly P, Hajjeh R, Wheat E, Alves K, *et al.* Differences in histoplasmosis in patients with acquired immunodeficiency syndrome in the United States and Brazil. *J Infect Dis* 2002 Dec 1; 186(11):1655-1660. doi: [10.1086/345724](https://doi.org/10.1086/345724).
30. Wheat LJ, Garringer T, Brizendine E, Connolly P. Diagnosis of histoplasmosis by antigen detection based upon experience at the histoplasmosis reference laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002 May; 43(1):29-37. doi: [10.1016/s0732-8893\(02\)00367-x](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(02)00367-x).
31. Scheel CM, Samayoa B, Herrera A, Lindsley MD, Benjamin L, Reed Y *et al.* Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect *Histoplasma capsulatum* antigenuria in immunocompromised patients. *Clin Vaccine Immunol* 2009 Jun; 16(6):852-858. doi: [10.1128/CVI.00066-09](https://doi.org/10.1128/CVI.00066-09).
32. Caceres DH, Samayoa BE, Medina NG, Tobon AM, Guzman BJ, Mercado D, *et al.* Multicenter Validation of Commercial Antigenuria Reagents To Diagnose Progressive Disseminated Histoplasmosis in People Living with HIV/AIDS in Two Latin American Countries. *J Clin Microbiol* 2018 May 25; 56(6). doi: [10.1128/JCM.01959-17](https://doi.org/10.1128/JCM.01959-17).
33. Caceres DH, Minderman MC, Chaney L, Gomez BL, Wheat LJ, Chiller TM. Evaluation of a *Histoplasma* Antigen Lateral Flow Assay for the Rapid Diagnosis of Progressive Disseminated Histoplasmosis in AIDS Patients. *Medical Mycology* 2018; 56(S158). doi: [10.1093/mmy/myy036](https://doi.org/10.1093/mmy/myy036).
34. Nacher M, Blanchet D, Bongomin F, Chakrabarti A, Couppié P, Demar M, *et al.* *Histoplasma capsulatum* antigen detection tests as an essential diagnostic tool for patients with advanced HIV disease in low and middle income countries: A systematic review of diagnostic accuracy studies. *PLoS Negl Trop Dis* 2018 Oct 19; 12(10):e0006802. doi: [10.1371/journal.pntd.0006802](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006802).
35. Torres-González P, Niembro-Ortega MD, Martínez-Gamboa A, Ahumada-Topete VH, Andrade-Villanueva J, Araujo-Meléndez J, *et al.* Diagnostic accuracy cohort study and clinical value of the *Histoplasma* urine antigen (ALPHA *Histoplasma* EIA) for disseminated histoplasmosis among HIV infected patients: A multicenter study. *PLoS Negl Trop Dis* 2018 Nov 5; 12(11):e0006872. doi: [10.1371/journal.pntd.0006872](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006872).
36. Caceres DH, Zuluaga A, Arango-Bustamante K, de Bedout C, Tobón ÁM, Restrepo Á, *et al.* Implementation of a Training Course Increased the Diagnosis of Histoplasmosis in Colombia. *Am J Trop Med Hyg* 2015 Sep; 93(3):662–667. doi: [10.4269/ajtmh.15-0108](https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0108).

37. Bansal N, Sethuraman N, Gopalakrishnan R, Ramasubramanian V, Kumar DS, Nambi PS, *et al.* Can urinary histoplasma antigen test improve the diagnosis of histoplasmosis in a tuberculosis endemic region? *Mycoses* 2019 Jun; 62(6):502–507. doi: [10.1111/myc.12902](https://doi.org/10.1111/myc.12902).
38. Samayoa B, Roy M, Cleveland AA, Medina N, Lau-Bonilla D, Scheel CM, *et al.* High Mortality and Coinfection in a Prospective Cohort of Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immune Deficiency Syndrome Patients with Histoplasmosis in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg* 2017 Jul; 97(1):42–48. doi: [10.4269/ajtmh.16-0009](https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0009).
39. Adenis AA, Aznar C, Couppie P. Histoplasmosis in HIV-infected patients: a review of new developments and remaining gaps. *Curr Trop Med Rep* 2014 Mar 8; 1:119–28. doi: [10.1007/s40475-014-0017-8](https://doi.org/10.1007/s40475-014-0017-8).
40. Nacher M, Adenis A, Aznar C, Blanchet D, Vantilcke V, Demar M, *et al.* How many have died from undiagnosed human immunodeficiency virus-associated histoplasmosis, a treatable disease? Time to act. *Am J Trop Med Hyg* 2014 Feb; 90 (2):193–94. doi: [10.4269/ajtmh.13-0226](https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0226).
41. Oladele RO, Toriello C, Ogunsola FT, Ayanlowo OO, Foden P, Fayemiwo AS, *et al.* Prior subclinical histoplasmosis revealed in Nigeria using histoplasmin skin testing. *PLoS One* 2018 May 9; 13(5):e0196224. doi: [10.1371/journal.pone.0196224](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196224).
42. Oladele RO, Ayanlowo OO, Richardson MD, Denning DW. Histoplasmosis in Africa: An emerging or a neglected disease? *PLoS Negl Trop Dis* 2018 Jan 18; 12(1):e0006046. doi: [10.1371/journal.pntd.0006046](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006046).
43. Pan B, Chen M, Pan W, Liao W. Histoplasmosis: a new endemic fungal infection in China? Review and analysis of cases. *Mycoses* 2013 May; 56(3):212–21. doi: [10.1111/myc.12029](https://doi.org/10.1111/myc.12029).
44. Nacher M, Adenis A, Arathoon E, Samayoa B, Lau-Bonilla D, Gomez BL, *et al.* Disseminated histoplasmosis in Central and South America, the invisible elephant: the lethal blind spot of international health organizations. *AIDS* 2016 Jan; 30(2):167–70. doi: [10.1097/QAD.0000000000000961](https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000961).
45. Colombo AL, Tobon A, Restrepo A, Queiroz-Telles F, Nucci M. Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. *Med Mycol* 2011 Nov; 49(8):785–798. doi: [10.3109/13693786.2011.577821](https://doi.org/10.3109/13693786.2011.577821).

46. Gutierrez ME, Canton A, Sosa N, Puga E, Talavera L. Disseminated histoplasmosis in patients with AIDS in Panama: a review of 104 cases. *Clin Infect Dis* 2005 Apr 15; 40(8):1199–1202. doi: [10.1086/428842](https://doi.org/10.1086/428842).
47. Samayoa B, Mercado E, Argueta D, Scheel C, Guzman B, Amado I, *et al*. Disseminated histoplasmosis (DH) before and after the implementation of urine antigen detection ELISA (UADE) in a HIV clinic in Guatemala. 52<sup>nd</sup> ICAAC, San Francisco, 9 September 2012. Poster M-1694.
48. Daher EF, Silva GB, Barros FA, Takeda CF, Mota RM, Ferreira MT, *et al*. Clinical and laboratory features of disseminated histoplasmosis in HIV patients from Brazil. *Trop Med Int Health* 2007 Sep; 12(9):1108–1115. doi: [10.1111/j.1365-3156.2007.01894.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2007.01894.x).
49. Nacher M, Adenis A, Adriouch L, Dufour J, Papot E, Hanf M, *et al*. What is AIDS in the Amazon and the Guianas? Establishing the burden of disseminated histoplasmosis. *Am J Trop Med Hyg* 2011 Feb; 84(2):239–240. doi: [10.4269/ajtmh.2011.10-0251](https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.10-0251).
50. Lewden C, Sobesky M, Cabié A, Couppié P, Boulard F, Bissuel F, *et al*. Causes of death among HIV infected adults in French Guyana and the French West Indies in the era of highly active antirretroviral therapy (HAART). *Med Mal Infect*. 2004 Jul 1; 34(7):286-92. doi: [10.1016/j.medmal.2004.05.002](https://doi.org/10.1016/j.medmal.2004.05.002).
51. Tuberculosis in the Americas— regional report 2014 epidemiology, control, and financing. Geneva: Pan American Health Organization (PAHO) and World Health Organization (WHO), 2015. Available from: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-cha-regional-report-america-tb.pdf> (accessed Nov 24, 2019).
52. Almeida MA, Almeida-Silva F, Guimarães AJ, Almeida-Paes R, Zancopé-Oliveira RM. The occurrence of histoplasmosis in Brazil: A systematic review. *Int J Infect Dis* 2019 Sep; 86:147-56. doi: [10.1016/j.ijid.2019.07.009](https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.07.009).
53. Zembruski MM, Bassanesi MC, Wagner LC, Severo LC. Inquérito intradérmico com histoplasmina e paracoccidioidina em duas regiões do Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 1996 Jan-Fev; 28(1):1-3. doi: [10.1590/S0037-86821996000100001](https://doi.org/10.1590/S0037-86821996000100001).
54. Unis G, Oliveira FM, Severo LC. Histoplasmose disseminada no Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004 Nov-Dec; 37(6):463-468. doi: [10.1590/S0037-86822004000600007](https://doi.org/10.1590/S0037-86822004000600007).

55. McKinsey DS, Spiegel RA, Hutwagner L, Stanford J, Driks MR, Brewer J, *et al.* Prospective study of histoplasmosis in patients infected with human immunodeficiency virus: incidence, risk factors, and pathophysiology. *Clin Infect Dis* 1997 Jun; 24(6):1195–203. doi: [10.1086/513653](https://doi.org/10.1086/513653).
56. Huber F, Nacher M, Aznar C, Pierre-Demar M, El Guedj M, Vaz T, *et al.* AIDS-related *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* infection: 25 years experience of French Guiana. *AIDS* 2008 May 31; 22(9):1047–53. doi: [10.1097/QAD.0b013e3282ffde67](https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3282ffde67).
57. Ramos IC, Soares YC, Damasceno LS, Liborio MP, Farias LABG, Heukelbach J, *et al.* Predictive factors for disseminated histoplasmosis in AIDS patients with fever admitted to a reference hospital in Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2018 Jul-Aug; 51(4):479–84. doi: [10.1590/0037-8682-0425-2017](https://doi.org/10.1590/0037-8682-0425-2017).
58. Maziarz EK, Perfect JR. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North Am* 2016 Mar; 30(1):179–206. doi: [10.1016/j.idc.2015.10.006](https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.006).
59. Perfect JR. Cryptococcosis (*Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*). In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, editores. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 9<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2019. P 1599-1618.
60. Williamson PR, Jarvis JN, Panackal AA, Fisher MC, Molloy SF, Loyse A, *et al.* Cryptococcal meningitis: Epidemiology, immunology, diagnosis and therapy. *Nat Rev Neurol* 2017 Jan; 13(1):13–24. doi: [10.1038/nrneuro.2016.167](https://doi.org/10.1038/nrneuro.2016.167).
61. Jarvis JN, Bicanic T, Loyse A, Namarika D, Jackson A, Nussbaum JC, *et al.* Determinants of mortality in a combined cohort of 501 patients with HIV-associated cryptococcal meningitis: implications for improving outcomes. *Clin Infect Dis* 2014 Mar; 58(5):736 –745. doi: [10.1093/cid/cit794](https://doi.org/10.1093/cid/cit794).
62. Rhein J, Bahr NC, Hemmert AC, Cloud JL, Bellamkonda S, Oswald C, *et al.* Diagnostic performance of a multiplex PCR assay for meningitis in an HIV-infected population in Uganda. *Diagn. Microbiol Infect Dis* 2016 Mar; 84(3):268 –273. doi: [10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.017](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.017).
63. Chammard TB, Temfack E, Lortholary O, Alanio A. Diagnostic and therapeutic strategies in cryptococcosis: impact on outcome. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2018; 113(7):e180050. doi: [10.1590/0074-02760180050](https://doi.org/10.1590/0074-02760180050).

64. Tanner DC, Weinstein MP, Fedorciw B, Joho KL, Thorpe JJ, Reller L. Comparison of commercial kits for detection of cryptococcal antigen. *J Clin Microbiol* 1994 Jul; 32(7):1680–4.
65. Wu TC, Koo SY. Comparison of three commercial cryptococcal latex kits for detection of cryptococcal antigen. *J Clin Microbiol* 1983 Nov; 18(5):1127–30.
66. Boulware DR, Rolfes MA, Rajasingham R, von Hohenberg M, Qin Z, Taseera K, *et al.* Multisite validation of cryptococcal antigen lateral flow assay and quantification by laser thermal contrast. *Emerg Infect Dis* 2014 Jan; 20(1):45–53. doi: [10.3201/eid2001.130906](https://doi.org/10.3201/eid2001.130906).
67. Rick F, Niyibizi AA, Shroufi A, Onami K, Steele S-J, Kuleile M, *et al.* Cryptococcal antigen screening by lay cadres using a rapid test at the point of care: A feasibility study in rural Lesotho. *PLoS One* 2017 Sep 16; 12(9):e0183656. doi: [10.1371/journal.pone.0183656](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183656).
68. Temfack E, Kouanfack C, Mossiang L, Loyse A, Fonkoua MC, Molloy SF, *et al.* Cryptococcal Antigen Screening in Asymptomatic HIV-Infected Antiretroviral Naive Patients in Cameroon and Evaluation of the New Semi-Quantitative Biosynex CryptoPS Test. *Front Microbiol* 2018 Mar 13; 9:409. doi: [10.3389/fmicb.2018.00409](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00409).
69. Mpoza E, Mukaremera L, Kundura DA, Akampurira A, Luggya T, Tadeo KK, *et al.* Evaluation of a point-of-care immunoassay test kit ‘StrongStep’ for cryptococcal antigen detection. *PLoS One* 2018 Jan 5; 13(1):e0190652. doi: [10.1371/journal.pone.0190652](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190652).
70. Björndóttir MK, Mahler SS, Raluca D, Arendrup MC. Evaluation of the new Dynamiker cryptococcal antigen Lateral Flow Assay (LFA) in comparison with IMMY LFA and Meridian latex agglutination test. ECCMID, Madrid, 21-24 April 2018. Poster 1197.
71. Karaman E, Ilkit M, Kuscu F. Identification of Cryptococcus antigen in human immunodeficiency virus-positive Turkish patients by using the Dynamiker® lateral flow assay. *Mycoses* 2019 Oct; 62(10):961–8. doi: [10.1111/myc.12969](https://doi.org/10.1111/myc.12969).
72. Rajasingham R, Wake RM, Beyene T, Katende A, Letang E, Boulware DR. Cryptococcal Meningitis Diagnostics and Screening in the Era of Point-of-Care Laboratory Testing. *J Clin Microbiol* 2019 Jan 2; 57(1). pii: e01238-18. doi: [10.1128/JCM.01238-18](https://doi.org/10.1128/JCM.01238-18).
73. Williams DA, Kiiza T, Kwizera R, Kiggundu R, Velamakanni S, Meya DB, *et al.* Evaluation of fingerstick cryptococcal antigen lateral flow assay in HIV-infected persons: a

diagnostic accuracy study. *Clin Infect Dis* 2015 Aug 1; 61(3):464–467. doi: [10.1093/cid/civ263](https://doi.org/10.1093/cid/civ263).

74. Vidal JE, Toniolo C, Paulino A, Colombo AL, Martins MA, Meira CS, *et al*. Performance of cryptococcal antigen lateral flow assay in serum, cerebrospinal fluid, whole blood, and urine in HIV-infected patients with culture-proven cryptococcal meningitis admitted at a Brazilian referral center. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2018;60:e1. doi: [10.1590/s1678-9946201860001](https://doi.org/10.1590/s1678-9946201860001).

75. Ssebambulidde K, Bangdiwala A, Kwizera R, Kandole TK, Tugume L, Kiggundu R, *et al*. Symptomatic cryptococcal antigenemia presenting as early cryptococcal meningitis with negative CSF analysis. *Clin Infect Dis* 2019 May 30; 68(12):2094–2098. doi: [10.1093/cid/ciy817](https://doi.org/10.1093/cid/ciy817).

76. Frola C, Guelfand L, Blugerman G, Szyld E, Kaufman S, Cahn P, *et al*. Prevalence of cryptococcal infection among advanced HIV patients in Argentina using lateral flow immunoassay. *PLoS One* 2017 Jun; 12(6):e0178721. doi: [10.1371/journal.pone.0178721](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178721).

77. Liechty CA, Solberg P, Were W, Ekwaru JP, Ransom RL, Weidle PJ, *et al*. Asymptomatic serum cryptococcal antigenemia and early mortality during antiretroviral therapy in rural Uganda. *Trop Med Int Health* 2007 Aug; 12(8):929–935. doi: [10.1111/j.1365-3156.2007.01874.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2007.01874.x).

78. Meya DB, Manabe YC, Castelnuovo B, Cook BA, Elbireer AM, Kambugu A *et al*. Cost-effectiveness of serum cryptococcal antigen screening to prevent deaths among HIV-infected persons with a CD4+ cell count  $\leq 100$  cells/ $\mu\text{L}$  who start HIV therapy in resource-limited settings. *Clin Infect Dis* 2010 Aug 15; 51(4):448–55. doi: [10.1086/655143](https://doi.org/10.1086/655143).

79. Linares L, Paz J, Bustamante B. Cryptococcal antigenemia in HIV infected patients with a CD4 count  $\leq 100$  cell  $\text{mm}^3$ . *Mycoses* 2012; 55(Suppl. 4):206–7. doi: [10.1111/j.1439-0507.2012.02206.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2012.02206.x).

80. Letang E, Muller MC, Ntamatungiro AJ, Kimera N, Faini D, Furrer H, *et al*. Cryptococcal antigenemia in immunocompromised human immunodeficiency virus patients in rural Tanzania: a preventable cause of early mortality. *Open Forum Infect Dis* 2015 Apr 2;2(2):ofv046. doi: [10.1093/ofid/ofv046](https://doi.org/10.1093/ofid/ofv046).

81. Faini D, Kalinjuma AV, Neborak J, King A, Mnzava D, Glass T *et al*. Maximizing detection and improving outcomes of cryptococcosis in rural Tanzania. *Top Antivir Med* 2016;24(E-1):318.

82. Mfinanga S, Chanda D, Kivuyo SL, Guinness L, Bottomley C, Simms V, *et al.* Cryptococcal meningitis screening and community-based early adherence support in people with advanced HIV infection starting antiretroviral therapy in Tanzania and Zambia: an open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2015 May 30; 385(9983):2173-82. doi: [10.1016/s0140-6736\(15\)60164-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)60164-7).
83. Meya DB, Kiragga AN, Nalintya E, Morawski BM, Rajasingham R, Park BJ, *et al.* Reflexive laboratory-based cryptococcal antigen screening and preemptive fluconazole therapy for cryptococcal antigenemia in HIV-infected individuals with CD4 <100 Cells/ $\mu$ L: A Stepped-Wedge, Cluster-Randomized Trial. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2019 Feb 1; 80(2):182–9. doi: [10.1097/QAI.0000000000001894](https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000001894).
84. Tufa TB, Girma A, Rajasingham R, Boulware D. Survival in HIV-infected asymptomatic cryptococcal antigenemia without CSF positivity treated with fluconazole did not differ from cryptococcal antigen (CrAg) negative with CD4 <150. *Open Forum Infect Dis* 2017 Oct 4;4 (suppl\_1):S208. doi: [10.1093/ofid/ofx163.409](https://doi.org/10.1093/ofid/ofx163.409).
85. Wake RM, Govender NP, Omar T, Nel C, Mazanderani AH, Karat AS, *et al.* Cryptococcal-related mortality despite fluconazole pre-emptive treatment in a cryptococcal antigen (CrAg) screen-and-treat programme. *Clin Infect Dis* 2019 Jun 8. pii: ciz485. doi: [10.1093/cid/ciz485](https://doi.org/10.1093/cid/ciz485).
86. Ford N, Shubber Z, Jarvis JN, Chiller T, Greene G, Migone C, *et al.* CD4 Cell Count Threshold for Cryptococcal Antigen Screening of HIV-Infected Individuals: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2018 Mar 4; 66(suppl\_2):S152–9. doi: [10.1093/cid/cix1143](https://doi.org/10.1093/cid/cix1143).
87. Mpoza E, Rajasingham R, Tugume L, Rhein J, Nabaggala MS, Ssewanyana I, *et al.* Cryptococcal Antigenemia in HIV therapy-experienced Ugandans with Virologic Failure. *Clin Infect Dis* 2019 Nov 3; pii: ciz1069. doi: [10.1093/cid/ciz1069](https://doi.org/10.1093/cid/ciz1069).
88. Beyene T, Zewde AG, Balcha A, Hirpo B, Yitbarik T, Gebissa T, *et al.* Inadequacy of high-dose fluconazole monotherapy among cerebrospinal fluid cryptococcal antigen (CrAg)-positive human immunodeficiency virus-infected persons in an Ethiopian CrAg screening program. *Clin Infect Dis* 2017 Nov 29;65(12):2126–2129. doi: [10.1093/cid/cix613](https://doi.org/10.1093/cid/cix613).
89. Wake RM, Britz E, Sriruttan C, Rukasha I, Omar T, Spencer DC, *et al.* 2018. High cryptococcal antigen titers in blood are predictive of subclinical cryptococcal meningitis among

human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis* 2017 Nov 29;65(12):2126-2129. doi: [10.1093/cid/cix872](https://doi.org/10.1093/cid/cix872).

90. Morawski BM, Boulware DR, Nalintya E, Kiragga A, Kakooza F, Rajasingham R, *et al.* Pre-ART cryptococcal antigen titer associated with preemptive fluconazole failure. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, Massachusetts, USA, 22-25 Feb 2016. Abstract 159.

91. Vallabhaneni S, Longley N, Smith M, Smith R, Osler M, Kelly N, *et al.* Implementation and operational research: evaluation of a public-sector, provider-initiated cryptococcal antigen screening and treatment program, Western Cape, South Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2016 Jun 1;72(2):e37-e42. doi: [10.1097/QAI.0000000000000976](https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000000976).

92. Jarvis JN, Harrison TS, Lawn SD, Meintjes G, Wood R, Cleary S. Cost effectiveness of cryptococcal antigen screening as a strategy to prevent HIV-associated cryptococcal meningitis in South Africa. *PLoS One* 2013 Jul 19;8(7):e69288. doi: [10.1371/journal.pone.0069288](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069288).

93. Cassim N, Schnippel K, Coetzee LM, Glencross DK. Establishing a cost-per-result of laboratory-based, reflex cryptococcal antigenaemia screening (CrAg) in HIV+ patients with CD4 counts less than 100 cells/ $\mu$ l using a lateral flow assay (LFA) at a typical busy CD4 laboratory in South Africa. *PLoS One* 2017 Feb 6;12(2):e0171675. doi: [10.1371/journal.pone.0171675](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171675).

94. Chipungu C, Veltman JA, Jansen P, Chiliko P, Lossa C, Namarika D, *et al.* Feasibility and acceptability of cryptococcal antigen screening and prevalence of cryptocococemia in patients attending a resource-limited HIV/AIDS clinic in Malawi. *J Int Assoc Provid AIDS Care* 2015 Sep-Oct;14(5):387-90. doi: [10.1177/2325957415592475](https://doi.org/10.1177/2325957415592475).

95. Rajasingham R, Meya DB, Boulware DR. Integrating cryptococcal antigen screening and pre-emptive treatment into routine HIV care. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012 Apr 15; 59(5):e85–91. doi: [10.1097/QAI.0b013e31824c837e](https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31824c837e).

96. Smith RM, Nguyen TA, Ha HT, Thang PH, Thuy C, Lien TX *et al.* Prevalence of cryptococcal antigenemia and cost–effectiveness of a cryptococcal antigen screening program – Vietnam. *PLoS One* 2013 Apr 23;8(4):e62213. doi: [10.1371/journal.pone.0062213](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062213).

97. Vidal JE, Toniolo C, Paulino A, Colombo A, Dos Anjos Martins M, da Silva Meira C, *et al.* Asymptomatic cryptococcal antigen prevalence detected by lateral flow assay in hospitalised



HIV-infected patients in Sao Paulo, Brazil. *Trop Med Int Health* 2016 Dec;21(12):1539-1544. doi: [10.1111/tmi.12790](https://doi.org/10.1111/tmi.12790).

98. Kimaro GD, Guinness L, Shiri T, Kivuyo S, Chanda D, Bottomley C, *et al*. Cryptococcal meningitis screening and community-based early adherence support in people with advanced HIV infection starting antiretroviral therapy in Tanzania and Zambia: a cost-effectiveness analysis. *Clin Infect Dis* 2019 May 31. pii: ciz453. doi: [10.1093/cid/ciz453](https://doi.org/10.1093/cid/ciz453).

99. Costa MM, Madeira LP, Feitosa RNM, Ishak MOGI, Silva SHM, Vallinoto ACR. Detection of *Cryptococcus neoformans* Capsular Antigen in HIV-Infected Patients in the State of Pará in the North of Brazil. *Curr HIV Res* 2013 Dec;11(8):647-51. doi: [10.2174/1570162x12666140311125420](https://doi.org/10.2174/1570162x12666140311125420).

100. Borges MASB, de Araujo Filho JA, Oliveira B de JS, Moreira IS, de Paula VV, de Bastos AL, *et al*. Prospective cohort of AIDS patients screened for cryptococcal antigenaemia, preemptively treated and followed in Brazil. *PLoS One* 2019 Jul 25;14(7):e0219928 doi: [10.1371/journal.pone.0219928](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219928).

101. Dromer F, Mathoulin-Pelissier S, Launay O, Lortholary O. Determinants of disease presentation and outcome during cryptococcosis: the CryptoA/D Study. *PLoS Med* 2007 Feb; 4(2):e21. doi: [10.1371/journal.pmed.0040021](https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040021).

102. Charlier C, Dromer F, Lévêque C, Chartier L, Cordoliani YS, Fontanet A, *et al*. Cryptococcal neuroradiological lesions correlate with severity during cryptococcal meningoencephalitis in HIV-positive patients in the HAART era. *PLoS One* 2008 Apr 16; 3(4):e1950. doi: [10.1371/journal.pone.0001950](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001950).

103. Bicanic T, Muzoora C, Brouwer AE, Meintjes G, Longley N, Taseera K, *et al*. Independent association between rate of clearance of infection and clinical outcome of HIV-associated cryptococcal meningitis: analysis of a combined cohort of 262 patients. *Clin Infect Dis* 2009 Sep 1;49(5):702-9. doi: [10.1086/604716](https://doi.org/10.1086/604716).

104. Jarvis JN, Bicanic T, Loyse A, Namarika D, Jackson A, Nussbaum JC, *et al*. Determinants of mortality in a combined cohort of 501 patients with HIV-associated cryptococcal meningitis: implications for improving outcomes. *Clin Infect Dis* 2014 Mar;58(5):736-45. doi: [10.1093/cid/cit794](https://doi.org/10.1093/cid/cit794).

105. Vidal JE, Gerhardt J, Peixoto de Miranda EJ, Dauar RF, Oliveira Filho GS, Penalva de Oliveira AC, *et al*. Role of quantitative CSF microscopy to predict culture status and outcome

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em relação à criptococose, a prevalência geral determinada por este estudo foi de 4,1%. Essa taxa é cerca de 30% menor do que a de países de pouco recursos, nos quais a estimativa é de cerca de 6,0%<sup>10</sup>. Para melhor entendimento da dimensão desta prevalência e a fim de fazer uma comparação mais adequada com outras realidades, deve-se considerar que a maioria dos estudos publicados avaliou pessoas com graus de imunossupressão mais avançados. Se considerarmos apenas pessoas com  $CD4 \leq 200$  células/ $\mu$ L, a prevalência verificada nesta pesquisa foi de 10%. Usando-se a mesma referência citada acima, essa taxa está bastante acima daquela estimada para países de poucos recursos. A comparação com outros estudos brasileiros também exige cautela, mas reforçam a interpretação de que a taxa verificada define uma prevalência significativa de antígeno criptocócico no contexto estudado. Mesmo que se tenha avaliado pacientes menos imunossuprimidos, a taxa verificada foi maior do que as previamente avaliadas nas cidades de Belém (prevalência de 2,6% entre pacientes internados, independentemente da contagem de CD4)<sup>99</sup> e de São Paulo (3,1%, pacientes internados com  $CD4 < 200$  células/ $\mu$ L)<sup>16</sup> e menor do que a prevalência em Goiás (7,9%, pessoas com  $CD4 < 200$  células/ $\mu$ L, internados e ambulatoriais)<sup>100</sup>. Para fins de comparação, adotando-se os critérios acima, as taxas medidas em Porto Alegre e Sapucaia do Sul são de respectivamente 7,5, 9,7% e 10%.

A prevalência geral de histoplasmose neste estudo foi de 13,1%. Essa taxa é menor do que a relatada no estudo de Falci *et al.*<sup>9</sup>, que verificou uma prevalência de 21,6% no Brasil. A interpretação dessa prevalência, contudo, exige a mesma cautela adotada na avaliação dos dados relacionados à criptococose. Os critérios adotados por Falci *et al.* identificam um grupo de pacientes semelhante ao do perfil 3 avaliado nesta pesquisa, ou seja, pessoas com suspeita de doença fúngica. A prevalência que este estudo verificou em pacientes com este perfil foi de 26,3%.

A inclusão de pessoas com menores graus de imunossupressão, embora exija cuidado na interpretação dos dados e não tenha sido relevante na avaliação de antígeno de *C. neoformans*, permitiu a identificação de uma prevalência considerável de pesquisa de antígeno de Histoplasma neste grupo de pacientes. Embora os dados revelem que a prevalência aumenta conforme o grau de imunossupressão, a taxa de 7,1% em pessoas com  $CD4 > 200$  células/ $\mu$ L é bastante elevada e permite considerar que histoplasmose pode ter um papel relevante em relação à morbidade nesse perfil de pacientes.

Em todos contextos analisados, a prevalência de antígeno de *H. capsulatum* foi mais elevada do que a de *C. neoformans*. Uma comparação pode auxiliar no entendimento do quanto essa diferença é relevante: a prevalência verificada de histoplasmose entre pessoas com CD4 > 200 células/ $\mu$ L, ou seja, no grupo de pessoas com menor grau de imunossupressão, foi de 5,1%, enquanto a prevalência geral de criptococose foi de 4,1%.

A identificação de fatores de risco para positividade dos testes oferece informações relevantes, especialmente para as equipes envolvidas no cuidado de pessoas vivendo com HIV. As associações verificadas de sintomas respiratórios e lesões de pele com histoplasmose e de alterações neurológicas com criptococose reforçam dados previamente já identificados na literatura. Na presença dessas alterações, deve-se ter um alto grau de suspeição em relação à presença dessas doenças. Além disso, embora não tenha atingido significância estatística, a tendência de associação da pesquisa de *C. neoformans* com mortalidade corrobora evidências anteriormente relatadas.

O conhecimento da epidemiologia das doenças oportunistas associadas ao HIV é um elemento fundamental na adoção de estratégias para sua prevenção, identificação e tratamento precoces. Os dados apresentados nesse estudo colaboram com a construção desse conhecimento, identificando que Porto Alegre e região metropolitana são um local de prevalência significativa de criptococose e histoplasmose e oferecendo elementos clínicos que podem colaborar com o rápido reconhecimento e tratamento dessas doenças. Além disso, a prevalência significativa de antígeno de *H. capsulatum* em pessoas com CD4 >200 células/ $\mu$ L identifica uma população de vulnerabilidade significativa e pouco valorizada para ocorrência dessa doença.

## 9. PERSPECTIVAS FUTURAS

A pesquisa de antígenos de *H. capsulatum* e *C. neoformans* oferece a possibilidade de um diagnóstico mais rápido e mais facilmente acessível dessas micoses, uma vez que são executadas num tempo mais curto e podem ser realizadas sem estrutura específica de laboratório de micologia. A pesquisa através de LFA oferece esses benefícios de maneira notável, uma vez que mesmo leigos treinados podem aplicá-la<sup>67</sup> e que pode ser realizada no local de atendimento do paciente. Sua utilização para pesquisa de *C. neoformans* já foi bastante estudada e está consagrada, demonstrando ótimos resultados e grandes benefícios. Espera-se que a recentemente desenvolvida pesquisa de *H. capsulatum* por LFA<sup>107</sup> permita a obtenção de resultados tão bons quanto os determinados pela pesquisa de *C. neoformans*. Neste estudo, por exemplo, enquanto não foi possível coletar urina para pesquisa de *H. capsulatum* em cerca de 17% dos pacientes incluídos, todas as pesquisas de *C. neoformans* foram realizadas.

A prevalência de histoplasmose é classicamente associada com a imunossupressão avançada causada pelo HIV e os achados deste estudo demonstram que essa taxa realmente se eleva com a progressão da imunossupressão. A identificação de uma prevalência elevada entre pessoas com CD4 > 200 células/μL, contudo, merece maior investigação. Se considerarmos que essa doença tem apresentação clínica semelhante à tuberculose e que ambas são comumente confundidas, é possível que em pessoas com HIV, mesmo sem graus avançados de imunossupressão, tenhamos uma presença significativa de histoplasmose. A exploração dessa possibilidade poderia ser feita com a investigação de histoplasmose em pacientes com HIV sobre os quais existe a suspeita de tuberculose e para quem foram solicitados exames confirmatórios desta hipótese.

Existem evidências apontando para benefício de terapia preemptiva para criptococose em pessoas com pesquisa de antígeno positivo e sem manifestações clínicas de meningite criptocócica<sup>82</sup>. A investigação dessa possibilidade em pessoas com pesquisa de *H. capsulatum* positiva e sem quadro clínico sugestivo histoplasmose disseminada é uma possibilidade que também merece ser explorada.

Em relação à criptococose, é possível perceber que as principais lacunas estão na identificação dos pacientes de maior risco para mortalidade e no melhor manejo desses casos. A titulação do teste LFA se mostrou útil na identificação pacientes de maior risco, porém o melhor manejo a ser oferecido ainda precisa ser melhor avaliado. Além disso, a aplicação dessa

técnica deve ser feita de forma a não prejudicar uma das principais vantagens do teste, que é a facilidade na sua realização.

O volume de evidências mostrando os benefícios da utilização da metodologia LFA para pesquisa de *C. neoformans* é considerável. A produção de conhecimento no âmbito nacional e local é fundamental e pode colaborar no convencimento dos gestores públicos a priorizarem sua utilização.

## 10. GUIDELINE STROBE

	<b>Item No</b>	<b>Recommendation</b>	<b>Page/comment</b>
<b>Title and abstract</b>	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract	58
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	59
<b>Introduction</b>			
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	60
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	60
<b>Methods</b>			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	61
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	61
Participants	6	(a) <i>Cohort study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up	61
		<i>Case-control study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of case ascertainment and control selection. Give the rationale for the choice of cases and controls	
		<i>Cross-sectional study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants	
		(b) <i>Cohort study</i> —For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed	-
		<i>Case-control study</i> —For matched studies, give matching criteria and the number of controls per case	
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and	61

		effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	61
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	61. Testes de histoplasma foram feitos por apenas uma pessoa, testes de criptococo foram realizados conforme orientação do fabricante, coleta de dados padronizada
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	Assumindo uma prevalência estimada de histoplasmose de 3%, que histoplasmose é mais frequente que criptococose no nosso meio e que a população do Ambulatório de Infectologia de Sapucaia do Sul é de 3000 pessoas, tendo uma margem de erro de +/- 5% e nível de confiança de 95%, a amostra foi calculada em 185 indivíduos
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	62
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	62
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	62
		(c) Explain how missing data were addressed	Indivíduos em que não foi possível coletar urina não tiveram seus dados analisados em relação a desfechos relacionados à histoplasmose
		(d) <i>Cohort study</i> —If applicable, explain how loss to follow-up was addressed  <i>Case-control study</i> —If applicable, explain how matching of cases and controls was addressed  <i>Cross-sectional study</i> —If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy	Pacientes sem o tempo total de seguimento tiveram o desfecho da última visita considerado

(e) Describe any sensitivity analyses

--

<b>Results</b>			
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	63
		(b) Give reasons for non-participation at each stage	63
		(c) Consider use of a flow diagram	-
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	63, 65
		(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	63, 65, 66
		(c) <i>Cohort study</i> —Summarise follow-up time (eg, average and total amount)	
Outcome data	15*	<i>Cohort study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures over time	63, 65
		<i>Case-control study</i> —Report numbers in each exposure category, or summary measures of exposure	
		<i>Cross-sectional study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures	
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	63, 65
		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	65
		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	-
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	63, 65, 66
<b>Discussion</b>			
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives	67, 68
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	68
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	67, 68



Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	67, 68
------------------	----	---	--------

---

**Other information**

Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	70
---------	----	---	----

\*Give information separately for cases and controls in case-control studies and, if applicable, for exposed and unexposed groups in cohort and cross-sectional studies.

**Note:** An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at [www.strobe-statement.org](http://www.strobe-statement.org).