



Teste antígeno criptocócico de fluxo lateral na terapia preemptiva de pessoas que vivem com HIV em locais de alta prevalência da antigenemia criptocócica

Lateral flow cryptococcal antigen test in preemptive therapy of people living with HIV in locations of high prevalence of cryptococcal antigenemia

Prueba de antígeno criptocócico de flujo lateral en terapia preventiva de personas que viven con VIH en lugares de alta prevalencia de antigenemia criptocócica

Mauricea Francisco da Silva Romero Gonzalez¹, Isabelle Vasconcellos de Souza², Maria Clara Lippi³, Derick Mendes Bandeira⁴, Fernando Raphael de Almeida Ferry¹.

RESUMO

Objetivo: Determinar a prevalência da antigenemia criptocócica através do teste CrAg-LFA em pessoas que vivem com HIV (PVHIV) e que estão em tratamento com antirretrovirais, correlacionando com a detecção do *Cryptococcus* spp. no líquido cefalorraquidiano (LCR). **Métodos:** O estudo foi realizado de abril/2021 a julho/2021 em uma amostra de 250 PVHIV, em atendimento no ambulatório de referência em HIV/AIDS do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (RJ). Avaliamos a prevalência das infecções e correlação das faixas de linfócitos T CD4+ com a ocorrência de neurocriptococose, cujo diagnóstico era definido por cultura microbiológica a partir do LCR ou por exame micológico direto. A análise estatística consistiu do teste Kappa de Cohen com classificação de Landis & Koch (1977). Para tanto, utilizamos o programa SPSS 27 for Mac IBM. **Resultados:** Detectamos a prevalência da antigenemia criptocócica em 8,8% dos pacientes (IC 95% 5,5-13,3%). A concordância entre a antigenemia criptocócica e a neurocriptococose demonstrou-se robusta (0,875; $p=0,0001$). **Conclusão:** A prevalência de antigenemia na população de estudo e a concordância na detecção do antígeno criptocócico, no soro e LCR, indicam a necessidade da realização do CrAg-LFA no soro, nas PVHIV, independente da carga viral ou vigência de TARV.

Palavras-chave: *Cryptococcus*, HIV, Teste diagnóstico.

ABSTRACT

Objective: To determine the prevalence of cryptococcal antigenemia using the CrAg-LFA test in people living with HIV (PLHIV) who are being treated with antiretroviral drugs, correlating this with the presence of *Cryptococcus* spp. in cerebrospinal fluid (CSF), detected through microbiological culture. **Methods:** The study was carried out from April/2021 to July/2021 on a sample of 250 PLHIV attending the HIV/AIDS referral clinic at the Gaffrée e Guinle University Hospital (RJ). We assessed the prevalence of infections and the correlation between CD4+ T lymphocyte levels and the occurrence of neurological cryptococcosis, the diagnosis of which was defined by microbiological culture from the CSF or by direct mycological examination. The statistical analysis consisted of Cohen's Kappa test with classification by Landis & Koch (1977). For this purpose, we used the SPSS 27 for Mac IBM program. **Results:** We detected the prevalence of cryptococcal antigenemia

¹ Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ.

² Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, Rio de Janeiro – RJ.

³ Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro – RJ.

⁴ Laboratório de Morfologia e Morfogênese Viral, Fundação Oswaldo Cruz (LMMV-FIOCRUZ), Rio de Janeiro - RJ.

in 8.8% of patients (95% CI 5.5-13.3%). The concordance between cryptococcal antigenemia and neurocryptococcosis was robust (0.875; $p=0.0001$). **Conclusion:** The prevalence of antigenemia in the study population and the concordance in detecting cryptococcal antigen in serum and CSF indicate the need for serum CrAg-LFA in PLHIV, regardless of viral load or ART status.

Keywords: *Cryptococcus*, HIV, Diagnostic test.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la prevalencia de antigenemia criptocócica mediante la prueba CrAg-LFA en personas que viven con el VIH (PVVIH) en tratamiento con antirretrovirales, correlacionándola con la detección de *Cryptococcus* spp. en líquido cefalorraquídeo (LCR). **Métodos:** El estudio se realizó de abril/2021 a julio/2021 en una muestra de 250 PVVIH que acudían a la clínica de referencia de VIH/SIDA del Hospital Universitario Gaffrée e Guinle (RJ). Se evaluó la prevalencia de infecciones y la correlación entre los niveles de linfocitos T CD4+ y la ocurrencia de neurocriptococosis, cuyo diagnóstico se definió por cultivo microbiológico del LCR o por examen micológico directo. El análisis estadístico consistió en la prueba Kappa de Cohen con la clasificación de Landis & Koch (1977). Para ello se utilizó el programa SPSS 27 para Mac IBM. **Resultados:** Detectamos la prevalencia de antigenemia criptocócica en el 8,8% de los pacientes (IC 95% 5,5-13,3%). La concordancia entre antigenemia criptocócica y neurocriptococosis fue robusta (0,875; $p=0,0001$). **Conclusión:** La prevalencia de antigenemia en la población estudiada y la concordancia en la detección de antígeno criptocócico en suero y LCR indican la necesidad de utilizar CrAg-LFA en suero en PVVIH, independientemente de la carga viral o del estado de TAR.

Palabras clave: *Cryptococcus*, VIH, Prueba diagnóstica.

INTRODUÇÃO

A criptococose é uma infecção fúngica sistêmica cuja evolução pode ser crônica, subaguda e menos frequente aguda, causada por leveduras encapsuladas das variedades *C. neoformans* var. *neoformans/gattii* pertencente ao Filo Basidiomycota em suas formas sexuadas conhecidas como *Filobasidiella*. Essas espécies, de ampla exposição ambiental podem infectar o homem de forma sistêmica, devido ao seu caráter invasivo, causando inicialmente uma lesão primária pulmonar. As lesões extrapulmonares são consequências de disseminação hematogênica, podendo atingir vários órgãos, especialmente em pacientes imunocomprometidos, apresentando maior gravidade quando atingem o Sistema Nervoso Central (SNC). Desse modo, a neurocriptococose (NC) tem sido considerada a causa mais frequente de meningite oportunista definidora da doença nas pessoas vivendo com o HIV (PVHIV) (COELHO C, et al., 2014; TAN I, et al., 2012).

O diagnóstico da NC consiste na realização de exames laboratoriais para identificar o *Cryptococcus* spp., através da cultura microbiológica para a identificação do fungo no líquido (LCR), constitui padrão-ouro de identificação. Outras técnicas, como pesquisa do antígeno pela técnica de aglutinação do Látex (CrAg-LA) e o exame micológico direto (coloração pela Tinta da China), permitem a identificação do fungo, presentes no soro e/ou LCR. Além desses exames, análises histopatológicas, sorológicas e moleculares também são empregadas (KON AS, et al., 2008). Esses testes laboratoriais tradicionais são laboriosos e demandam um tempo que podem representar perdas e injúrias ao paciente. Para coleta do LCR, há necessidade de médico treinado para realização da punção lombar (PL) e para execução dos exames, é necessária uma estrutura laboratorial adequada com equipamentos, reagentes e principalmente recursos humanos compostos de profissionais capacitados. O atraso no diagnóstico final pode retardar a informação adequada ao médico assistente, retardando o início do tratamento específico para NC, o que leva ao retardo da instituição do protocolo terapêutico (DRAIN PK, et al., 2019).

Existem ainda desafios para estabelecer o diagnóstico e tratamento dessa infecção, principalmente nos países menos desenvolvidos. Um estudo realizado para determinar a carga global da Neurocriptococose associada ao HIV, concluiu que a doença está associada mundialmente a cerca de 15% de mortes na coinfeção. Apesar da África Subsaariana representar a maior carga de NC em adultos, a América Latina foi

apontada como a terceira região global com a maioria dos casos. Um estudo publicado em 2015 sobre a incidência de meningite criptocócica na América Latina, demonstrou que são diagnosticados aproximadamente 10.000 casos anuais (TAN I, et al., 2012; RAJASINGHAM R, et al., 2012; PARK BJ, et al., 2009).

Uma das condições que retira o *Cryptococcus* spp. do estado de latência e predispõe o indivíduo à antigenemia, podendo evoluir para a NC, é a baixa contagem de LT-CD4+. Desde 2018, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda o diagnóstico precoce do antígeno criptocócico no sangue (antigenemia criptocócica) para identificar a infecção assintomática em PVHIV com contagens de linfócitos T-CD4+ inferiores a 100 células/mm³, antes do início ou reinício da TARV, bem como a detecção da infecção em pacientes com contagens inferiores a 200 células/mm³. Em 2020, foi recomendado o rastreio através de um teste rápido de fácil execução em populações com prevalência de antigenemia criptocócica acima de 3%. Perante a essa necessidade, o Ministério da Saúde (MS) incluiu a criptococose na Lista Nacional Brasileira de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública em todo território nacional, recomendando o monitoramento da doença através do teste CrAg-LFA em PVHIV com contagem de linfócitos T-CD4+ abaixo de 200 células/mm³ (BRASIL, 2021; JARVIS JN, et al., 2009).

CrAg-LFA é um ensaio imunocromatográfico de fluxo lateral para detecção do antígeno criptocócico. Esse teste é considerado um importante avanço para melhorar o contínuo cuidado com PVHIV, no intuito de reduzir a mortalidade relacionada à NC (RAJASINGHAM R, et al., 2012). O grande benefício do desenvolvimento dessa tecnologia, é a sua capacidade de detectar o antígeno criptocócico no soro, sendo, portanto, um marcador biológico da infecção criptocócica. Segundo alguns autores, o antígeno pode ser detectado em indivíduos imunossuprimidos em uma mediana de 3 semanas antes dos sintomas de neurocriptococose e caso o criptococo seja detectado no líquido, o tratamento deve ser urgente e hospitalar (VIDAL JE e BOULWARE DR, 2015). Dessa forma, a antigenemia assintomática é uma janela de oportunidade para tratamento ambulatorial desses pacientes, evitando o desenvolvimento da doença.

O presente estudo avalia a prevalência da antigenemia criptocócica em PVHIV acompanhadas no ambulatório de imunologia/aids do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, referência para HIV/aids, através do CrAg-LFA e busca estabelecer a concordância com a presença do *Cryptococcus* spp. no LCR, detectado através da cultura microbiológica que é considerada padrão ouro para diagnóstico de neurocriptococose. Ademais, busca-se correlacionar a prevalência da antigenemia com as diferentes faixas de contagem de LT-CD4+ para determinar aquelas com maior frequência. A concordância da antigenemia criptocócica entre os métodos diagnósticos CrAg-LA e a coloração Tinta da China, preconizados na rotina da instituição, também foram avaliadas. Buscou ainda realizar regressão logística para verificar se a contagem de células de linfócitos CD4+, carga viral e tempo de TARV seriam previsores da antigenemia criptocócica nas PVHIV.

MÉTODOS

O estudo foi conduzido em uma população composta por 250 PVHIV, assintomática ou não, recrutada de forma aleatória, sem randomização, por conveniência à medida em que os pacientes eram atendidos no ambulatório de Imunologia/aids do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, no período de abril/2021 a julho/2021, após aprovação do Comitê de Ensino e Pesquisa do HUGG, pelo parecer substanciado nº 4.639.952 - CAAE 43005621.7.0000.5258 e concordância de participação através do termo de consentimento livre e esclarecido. Os critérios de inclusão na pesquisa foram pacientes com diagnóstico confirmado de infecção pelo HIV em acompanhamento clínico e laboratorial no ambulatório de Imunologia/aids do HUGG, excluindo-se apenas PVHIV menores de 16 anos e os que não consentiram a participação.

O cálculo amostral foi realizado considerando um erro padrão (EP) de 4,5%, nível de confiança de 95%, na população total de 2.000 PVHIV em seguimento no Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, em um percentual estimado de positividade de antigenemia de 7,5% baseado na literatura¹⁰, o que levou à formação de dois grupos distintos, um composto por 126 PVHIV com contagem de LT-CD4+ \leq 350 células/mm³ e o outro foi formado por 124 PVHIV com contagem de LT-CD4+ $>$ 350 células /mm³.

Todos os participantes realizaram o teste CrAg-LFA (INLAB, Alamar Técnico-Científico Ltda., Diadema-SP, Brasil), CrAg-LA (INLAB, Alamar Técnico-Científico Ltda., Diadema-SP, Brasil) e o teste Tinta da China (Acrilex, AcrilexT.E.S.A., SP, Brasil), além das quantificações de células LTCD4+, Carga Viral e tempo de TARV. Para os pacientes testados positivos para CrAg-LFA no soro, a avaliação clínica indicou 20 punções lombares para realização de testes para estudo de concordância com a antigenemia. A cultura microbiológica automatizada foi realizada como padrão-ouro de identificação (BioMerieux, Marcy-L'Etoile, França).

Para análise estatística foi realizado o teste de coeficiente de concordância kappa de Cohen (k) entre o CrAg no soro e o desfecho de NC (cultura positiva). Para determinar a faixa de LT-CD4+ mais relacionada com a ocorrência de NC, foi realizado o teste de correlação para antigenemia criptocócica (CrAg) e a titulação do Látex para *Cryptococcus* sp. Os resultados foram analisados pelo cálculo estatístico da Razão de Chances (Odds Ratio) entre os dois grupos analisados, sendo LT-CD4+ ≥ 350 células/mm³, a referência (controle) com grupo não exposto. Todas as análises foram realizadas pelo programa SPSS estatístico 27 for Mac (IBM). Considerou-se para significância estatística um p valor $< 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 250 PVHIV, a maioria era do sexo masculino e parda, contabilizando proporcional e respectivamente, 63,6% na população do estudo (159/250) e 59,1% (13/22) dos pacientes que apresentaram antigenemia, sendo mantidas essas condições tanto entre grupos da população geral quanto na estratificada de 22 pacientes, testadas pelo CrAg-LFA. A idade da população de estudo variou entre 17 a 78 anos onde a mediana da população total foi de 44 anos (IQR 34-55) e 38 anos (IQR 30,25-53,25) naquelas que apresentaram antigenemia sem variação significativa respectivamente nos subgrupos geral e CrAg positivos: PVHIV com contagem de LT-CD4+ ≤ 350 células/mm³ [41 anos (IQR 32-53) e 37,5 anos (IQR 28-43,25)] e nos PVHIV com contagem de L-CD4+ > 350 células/mm³ [47 anos (IQR 36-53,25) e 53,5 anos (IQR 37,25-65,25)].

Entretanto, dados da UNAIDS publicados em 2021, demonstraram que mulheres e meninas foram responsáveis por 50% de todas as novas infecções por HIV em 2020. Na África subsaariana, a prevalência de mulheres chega a 63% de todas as novas infecções pelo HIV e 27,4 milhões (IQR 26,5 milhões - 27,7 milhões) das PVHIV tiveram acesso à terapia antirretroviral (UNAIDS, 2021). Dos 250 pacientes incluídos no estudo, vinte e dois apresentaram o antígeno CrAg positivo no soro através do teste imunocromatográfico CrAg-LFA (22/250), estabelecendo a prevalência da antigenemia para *Cryptococcus* spp. na população estudada em 8,8% (IC 95% 5,5-13,3%).

Outros estudos realizados pelo mundo apontaram altas prevalências, como na Nigéria, nas cidades de Lagos e Benin (8,9% e 12,7%, respectivamente) (JARVIS JN, et al., 2009), na Argentina, em Buenos Aires (8,1%) e no Brasil, especialmente no Rio de Janeiro (11,3%) (FROLA C, et al., 2017; FERREIRA MF, et al., 2020). Os estudos apresentaram resultados alarmantes, principalmente por sugerir uma possível equivalência em relação a exposição ao agente etiológico nessas cidades, confirmando a natureza ubíqua do *Cryptococcus* spp (HUANG C, et al., 2020).

Durante a consulta no ambulatório de Imunologia e Aids, momento de captação dos participantes do estudo, de acordo com avaliação médica em relação à clínica dos pacientes, houve necessidade de realização da punção líquórica (PL) em 22 pacientes, sendo recrutados com sucesso 20 desses, para o estudo do LCR, o qual foram solicitados exames específicos. Dessa forma, o estudo foi facilitado pela condução clínica, tendo em vista que 15 desses pacientes já haviam sido captados e testaram positivo para o CrAg-LFA. Dos 15 pacientes positivos para o CrAg-LFA, o teste no LCR apresentou 100% de concordância nos resultados positivos e negativos. Cinco desses pacientes (5/20) que haviam testado negativo para antigenemia também o foram no LCR e não apresentaram crescimento de leveduras na cultura. Já nas amostras de LCR dos 15 pacientes que testaram positivo para o CrAg-LFA, houve crescimento leveduriforme na cultura microbiológica em 14 amostras (14/15). Todas as amostras onde houve o crescimento da levedura na cultura microbiológica pertenciam ao grupo LT-CD4+ < 350 células/mm³. Na avaliação da concordância da antigenemia para *Cryptococcus* sp. no soro e a positividade da cultura no LCR, o coeficiente de concordância Kappa de Cohen

foi de 0,875 ($p < 0,0001$). Em 2015, autores avaliaram o CrAg-LFA por punção capilar em uma coorte com 207 PVHIV com suspeita clínica de neurocriptococose. Dos participantes que eram CrAg-LFA positivos na punção capilar, 93% (138/149) também foram CrAg-LFA positivos no LCR, 7% considerados como tendo antigenemia criptocócica isolada, passíveis de tratamento com antifúngico oral, levando-se em consideração as recomendações da OMS14 e estudos de 2002 já demonstravam que a antigenemia precede a neuroinfecção em cerca 22 dias (FRENCH N, et al., 2002). Nossos resultados aqui apresentados foram a partir da análise no soro e demonstraram ter, em relação ao teste CrAg-LFA no LCR, concordância perfeita ($p < 0,0001$). Na avaliação da concordância da antigenemia para *Cryptococcus* spp. No soro e a positividade da cultura no LCR, o coeficiente de concordância Kappa de Cohen foi de 0,875 ($p < 0,0001$).

No grupo LT-CD4+ \leq 350 células/mm³, a frequência da antigenemia para *Cryptococcus* sp. foi de 14,3% (IC 95% 10,7%-28,5%), enquanto para o grupo LT-CD4+ $>$ que 350 células/mm³, a frequência foi de 3,2% (IC 95% 1,1%- 10,2%) (Tabela 1). A razão de prevalência (RP) da antigenemia para *Cryptococcus* sp. entre os PVHIV com contagem de LT-CD4+ \leq 350 células/mm³ foi de 4,5 (IC 95% 1,5%- 12,7%), em comparação com PVHIV com contagem $>$ 350 células/mm³, ou seja: PVHIV com contagem de linfócitos \leq 350 células/mm³ possuem 4,5 vezes mais chances de testarem CrAg positivo no soro. Em semelhante estudo, autores demonstraram que PVHIV com contagens de LT-CD4+ abaixo de 100 células/mm³ possuem 7 vezes mais chances de possuírem antigenemia do que as que tinham contagem de LT-CD4+ acima de 100 células/mm³ (PONGSAI P, et al., 2010).

Tabela 1- Antigenemia pelo método CrAg-LFA por Grupo T-CD4+

| Grupo tcd4+ | | Frequência | Porcentagem |
|----------------|-------|------------|-------------|
| Cd4 \leq 350 | não | 108 | 85,7 |
| | sim | 18 | 14,3 |
| | total | 126 | 100 |
| Cd4 $>$ 350 | não | 120 | 96,8 |
| | sim | 4 | 3,2 |
| | total | 124 | 100 |

Fonte: Gonzalez MFSR, et al., 2024.

Os 22 pacientes CrAg-LFA positivos no soro realizaram o teste CrAg-LA (Látex). Ambos os testes foram 100% concordantes, com prevalência de 8,8% de antigenemia realizada por CrAg-LA. Dessa forma, no grupo de PVHIV com LT-CD4+ \leq 350 células/mm³ a porcentagem foi de 14,3% e no grupo de PVHIV LT-CD4+ $>$ 350 células/mm³ a porcentagem foi de 3,2% (Tabela 2). Na avaliação da concordância entre a titulação de antigenemia para *Cryptococcus* sp. (CrAg-LFA) e a titulação de antígenos capsulares para *Cryptococcus* spp. (CrAg-LA), o coeficiente de concordância ponderado de Cohen foi de 0,98 ($\leq 0,0001$) para as amostras de soro e de 0,74 ($p = 0,002$) para as amostras de LCR. O teste CrAg-LA, para detecção do antígeno criptocócico, tem sido utilizado há anos em diagnóstico da criptococose (POWDERLY WG, et al., 1994), demonstrando excelente sensibilidade e especificidade em um outro (POWDERLY WG, et al., 1994; JARVIS JN, et al., 2012).

Porém, a detecção do antígeno, neste caso, necessita de uma estrutura laboratorial relativamente complexa: equipamentos (estufa, banho maria, homogeneizador, centrífuga, refrigerador), reagentes enzimáticos específicos e padronização metodológica complexa, além de poder apresentar algumas vezes resultados subjetivos dependentes da interpretação e análise do profissional.

Desta forma, um grande esforço foi feito para o desenvolvimento de um teste rápido de detecção do antígeno do *Cryptococcus* sp. no soro, sem a necessidade da utilização de equipamentos laboratoriais e que fornecesse um resultado de forma mais célere possível. Foi então desenvolvido o teste *Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay* (CrAg-LFA) que atualmente tem sido recomendado no apoio do diagnóstico clínico, principalmente em função do seu resultado ser liberado em apenas 10 minutos (HURTADO GS e QUINTERO-CUSGUEN P, 2021). Para o teste, basta o uso de uma gota de sangue do paciente, que pode ser obtida de maneira simples e segura em ambulatório e assim permitir o diagnóstico e o tratamento de forma precoce.

A avaliação da concordância da antigenemia criptocócica detectada pelo teste CrAg-LFA e a detecção direta através do método de coloração Tinta da China foi realizada nas 20 amostras de LCR. Das 15 amostras CrAg-LFA positivas no soro e no LCR, 13 tiveram o exame direto pela coloração Tinta da China para pesquisa do *Cryptococcus* sp. positivas no LCR. As amostras que foram CrAg-LFA negativas no LCR também o foram no teste da Tinta da China (5/20) e o coeficiente de concordância de Cohen foi de 0,317 ($p < 0,001$) (Tabela 2).

Tabela 2- CrAg-LFA soro (antigenemia) x Tinta da China.

| Pesquisa Nanquim | | | |
|------------------|-------------------|-------------------|----------------|
| CrAg-LFA | Negativo N (%) | Positivo N (%) | Total N (%) |
| Positivo | 2 13,3% | 13 86,7% | 15 100% |
| Negativo | 5 100% | 0 0% | 5 100% |
| Total | 7 35% | 13 65% | 20 100% |

Fonte: Gonzalez MFSR, et al., 2024.

Em relação à determinação de concordância da antigenemia criptocócica através do CrAg-LFA com o método direto da Tinta Nanquim, no LCR, a concordância se mostrou razoável. Houve consenso em estudo semelhante, cuja sensibilidade da microscopia de tinta nanquim foi a mais baixa (86%). A sensibilidade diminuiu para 42% (19/45) entre pessoas com culturas de LCR com menos que 1.000 UFC/ml.

No geral, um de 7,2 diagnósticos criptocócicos foi perdido pela microscopia com tinta nanquim (valor preditivo negativo de 80%; IC 95% 76%-84%). Se a microscopia com tinta nanquim tivesse sido o único teste diagnóstico 8,8% dos casos de meningite em Uganda não teriam sido diagnosticados corretamente (BOULWARE D, et al., 2014). Em comparação com o presente estudo, as 14 amostras de LCR CrAg-LFA positivas que demonstraram concordância de 100% com o CrAg-LFA no soro, uma amostra foi negativa no teste da tinta nanquim.

Apesar da pesquisa do criptococo no LCR através da microscopia direta utilizando tinta nanquim ser bastante difundida, de baixo custo e não necessitar de tecnologia avançada, a sensibilidade deste método também demonstrou que pode ser altamente variável, pois os elementos fúngicos podem ser confundidos com leucócitos lisados na amostra, tornando essa técnica dependente de carga fúngica e ampla experiência do técnico na realização do exame e na detecção pela microscopia (MAKADZANGE AT, et al., 2010).

Foi realizada a regressão logística para verificar se a contagem de células de linfócitos CD4+ e a carga viral foram previsores para a presença de antigenemia detectada através do teste CrAg-LFA para *Cryptococcus* spp. nas PVHIV. Verificou-se que no modelo contendo a contagem de LT-CD4+ ≤ 350 células/mm³ foi significativo [X²(2) 11,21; $p = 0,004$, R² de Nagelkerke = 0,098]. Dessa forma a contagem de células LT-CD4+ ≤ 350 células/mm³ foi preditor significativo (OR = 4,4 [IC 95% 1,4 - 13,83], porém a carga viral não mostrou significância (Tabela 3).

Tabela 3- Regressão logística Univariada e Multivariada para antigenemia para *Cryptococcus* spp.

| Preditores | Regressão Logística Univariada | | | | | Regressão Logística Multivariada | | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-------|------------------------------|----------------------------------|-----------------|-----------------|------|------------------------------|
| | IC 95% para OR | | | | | IC 95% para OR | | | | |
| | OR | Limite inferior | Limite superior | P | R ² Nagelkerke | OR | Limite inferior | Limite superior | P | R ² Nagelkerke |
| CD4 < 350 céls/mm ³ | | | | | | | | | | |
| Carga Viral RNA-HIV detectável | 5,00 | 1,64 | 15,23 | 0,005 | 0,09 | 4,41 | 1,40 | 13,83 | 0,01 | 0,098 |
| Carga Viral RNA-HIV detectável | 2,26 | 0,94 | 5,47 | 0,07 | 0,03 | 1,56 | 0,63 | 3,96 | 0,33 | |

Fonte: Gonzalez MFSR, et al., 2024.

Entre os pacientes que apresentaram antigenemia para *Cryptococcus* sp. (22/250), cerca de 32% (7/22) estavam em TARV até 5 anos, cerca de 32% (7/22) estavam em TARV entre 5 e 10 anos e 36% (8/22) em TARV há mais de 10 anos (**Tabela 4**) e, portanto, sem apresentarem diferença estatística quanto ao tempo de TARV ($p=0,5$).

Tabela 4- Análise do Tempo de TARV.

| CrAg positivo (soro) | TARV categórico | | | | |
|----------------------|--------------------------|-------|----------------|-----------|-------|
| | < 5 anos | | De 5 a 10 anos | > 10 anos | Total |
| | 7 | | 7 | 8 | 22 |
| Sim | (%) CrAg positivo | 31,8% | 31,8% | 36,4% | 100% |
| | Contagem | 48 | 80 | 100 | 228 |
| Não | % CrAg positivo | 21,1% | 35,1% | 43,9% | 100% |
| | Contagem | 55 | 87 | 108 | 250 |
| Total | % CrAg positivo | 22% | 34,8% | 43,2% | 100% |

Fonte: Gonzalez MFSR, et al., 2024.

Há comprovada relação entre o aumento da carga viral (CV) do HIV e a diminuição de LT-CD4+. Apesar dos avanços no tratamento da infecção pelo HIV com a terapia antirretroviral de alta potência (TARV) e a diminuição da incidência de infecções oportunistas, essas continuam sendo um grave problema de saúde pública em todo o mundo. Muitos desses indivíduos progridem para a imunossupressão avançada associada à ocorrência de múltiplas infecções oportunistas, entre elas a NC. Alguns desses pacientes iniciam o quadro de AIDS com NC como primeira manifestação, outros a manifestam por abandono do tratamento por diversas causas, o que ainda é muito comum em algumas áreas do mundo, incluindo a América Latina (OGUYÈMI-HOUNTO A, et al., 2016; OYELLA J, et al., 2012; PARK BJ, et al., 2009).

Além disso, é de extrema importância o entendimento clínico do momento correto para início da TARV, principalmente nos estágios de imunossupressão, pois a criptococose é sabidamente associada à Síndrome Inflamatória de Reconstituição Imunológica (SIRI) no início da TARV, contexto em que a restauração imunológica pode exacerbar sinais e sintomas da ativação da criptococose, que estavam em estágio subclínico (SÁEZ D, et al., 2006). Por fim, uma compilação realizada em 2020 contendo 22 estudos descritos em dez países diferentes totalizando 8.338 PVHIV, demonstrou uma prevalência combinada de antigenemia criptocócica de 8% (IC de 95%:6-10%) (DERBIE A, et al., 2020).

Este estudo teve algumas limitações, quais sejam, estabelecer contato posterior com os participantes da pesquisa para convocação tornou-se um fator dificultador e casos de antigenemia relacionadas à neurocriptococose não puderam ser determinados em todos os pacientes assintomáticos. Caso houvesse a possibilidade de realizar a PL em todos os participantes que apresentaram a antigenemia pelo CrAg-LFA, principalmente nos que apresentaram altos títulos, a prevalência na população total talvez apresentasse valor superior ao encontrado. A experiência deste estudo demonstrou a dificuldade de realização da pesquisa do CrAg no LCR em pacientes assintomáticos, pela falta de disposição dos pacientes em concordarem com a PL na ausência de sintomas.

Em contrapartida, um caso exigiu especial atenção e contribuiu, consideravelmente em relação ao rastreamento dos pacientes e a necessidade de investigação por PL e não diretamente a realização de tratamento preemptivo. Tal caso refere-se a paciente feminina, 26 anos, gestante de 24 semanas e 5 dias (2º trimestre), em acompanhamento no ambulatório de imunologia e Aids, assintomática e em uso irregular da TARV, com LT-CD4+ de 198 células/mm³; e CV de 9.938 cópias/mm³.

Ao utilizar o seu plasma remanescente para a realização do teste CrAg-LFA, esse se apresentou positivo e titulado em 1:320. Considerado resultado crítico, foi comunicado à médica assistente, que convocou a paciente e após avaliação criteriosa procedeu à PL. A análise do LCR pelo CrAg-LFA mostrou a presença do antígeno criptocócico na titulação de 1/1000, porém foi negativo no teste da coloração pela Tinta Nanquim e positiva na cultura microbiológica. A internação foi indicada para protocolo de tratamento das fases de indução e consolidação para neurocriptococose.

Essa paciente estava assintomática e a realização da pesquisa auxiliou no desfecho da terapêutica com sucesso. No final do estudo a paciente encontrava-se na fase de manutenção do tratamento sem apresentar sinais ou sintomas neurológicos.

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados o público do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle evidenciam uma alta prevalência da antigenemia para CrAg entre pacientes vivendo com HIV. Essa constatação ultrapassa os limites estabelecidos pela OMS para o rastreio e tratamento preventivo da neurocriptococose em casos de antigenemia isolada. Diante desse cenário, a implementação do teste CrAg-LFA no Sistema Único de Saúde torna-se mais relevância. Portanto, o presente estudo aponta a necessidade de adoção de uma rotina laboratorial específica que inclua a detecção sistemática da antigenemia criptocócica por meio do método CrAg-LFA em todos os pacientes vivendo com HIV, especialmente aqueles com contagens de LT-CD4+ abaixo de 350 células/mm³. Além disso, sugere-se a realização de punção lombar quando indicada, visando diferenciar os casos de neurocriptococose da antigenemia isolada. Essas medidas são fundamentais para garantir o tratamento adequado dessa infecção grave, que representa um alto risco à vida dos pacientes vivendo com HIV.

REFERÊNCIAS

1. BOULWARE D. et al. Multisite Validation of Cryptococcal Antigen Lateral Flow 51 Assay and Quantification by Laser Thermal Contrast. *Emerg Infect Dis*, 2014; 20(1): 45-53.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/system/tdf/pub/2016/64484/pcdt_adulto_12_2018_web.pdf?file=1&type=node&id=64484&force=1>. Acesso em: 25 jul. 2021.
3. COELHO C, et al. The Tools for Virulence of *Cryptococcus neoformans*. *Advances in Applied Microbiology*, 2014; 1(1): 1-41.
4. DERBIE A, et al. Cryptococcal antigenemia and its predictors among HIV infected patients in resource limited settings: a systematic review. *BMC Infect Dis*, 2020; 20(1): 407.
5. DRAIN PK, et al. Validation of clinic-based cryptococcal antigen lateral flow assay screening in HIV-infected adults in South Africa. *Scientific Reports*, 2019; 9(1): 2687.
6. FERREIRA MF, et al. Cryptococcal antigenemia prevalence and clinical data in HIV-infected patients from the reference centre at INI-FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Southeast of Brazil. *Mycoses*, 2020; 63(2): 145-150.
7. FRENCH N, et al. Cryptococcal infection in a cohort of HIV-1 infected Ugandan adults. *AIDS*, 16(7): 1031-1038.
8. FROLA C, et al. Prevalência de infecção criptocócica entre pacientes com HIV avançado na Argentina usando imunoensaio de fluxo lateral. *PLoS ONE*, 2017; 12(6): 0178721.
9. HUANG C, et al. Emerging *Cryptococcus gattii* species complex infections in Guangxi, southern China. *PLoS Negl Trop Dis*, 2020; 14(8): 0008493.
10. HURTADO GS e QUINTERO-CUSGUEN P. Criptococose meníngea. *Acta Neurol Colomb*, 2021; 37(1): 90-100.
11. JARVIS JN, et al. Cryptococcal antigen screening and preemptive therapy in patients initiating antiretroviral therapy in resource-limited settings: a proposed algorithm for clinical implementation. *J Int Assoc Physicians AIDS Care*, 2012; 11: 374-379.
12. JARVIS JN, et al. Screening for cryptococcal antigenemia in patients accessing an antiretroviral treatment program in South Africa. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 2009; 48(7): 856-862.
13. KON AS, et al. Consenso em criptococose - 2008. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2008; 41(5): 524-544.
14. MAKADZANGE AT, et al. Early versus delayed initiation of antiretroviral therapy for concurrent HIV infection and cryptococcal meningitis in sub-saharan Africa. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*, 2010; 50(11): 1532-1538.
15. OGOUYEMI-HOUNTO A, et al. Prevalence and factors associated with cryptococcal antigenemia in HIV-infected patients in Cotonou/Benin. *Journal de Mycologie Medicale*, 2016; 26(4): 391-397.

16. OYELLA J, et al. Prevalência e fatores associados à antigenemia criptocócica entre adultos gravemente imunossuprimidos infectados pelo HIV em Uganda: um estudo transversal. *Journal of the International AIDS Society*, 2012; 15(1): 15.
17. PARK BJ, et al. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS*, 2009; 23(4): 525-530.
18. PONGSAI P, et al. The role of serum cryptococcal antigen screening for the early diagnosis of cryptococcosis in HIV-infected patients with different ranges of CD4 cell counts. *The Journal of Infection*, 2010; 60(6): 474-477.
19. POWDERLY WG, et al. Medição do antígeno criptocócico no soro e líquido cefalorraquidiano: valor no tratamento da meningite criptocócica associada à AIDS. *Clin Infect Dis*, 1994; 18: 789-792.
20. RAJASINGHAM R, et al. Integrando a triagem do antígeno criptocócico e o tratamento preventivo aos cuidados de rotina para o HIV. *Jornal de Síndromes de Imunodeficiência Adquirida*, 2012; 59(5): 85-91.
21. SÁEZ D, et al. Síndrome de restauración inmune asociado a tratamiento antirretroviral y cryptococosis meníngea. Caso clínico. *Revista Médica de Chile*, 2006; 134: 10.
22. TAN I, et al. HIV-associated opportunistic infections of the CNS. *Lancet Neurol*, 2012; 11(7): 605-617.
23. UNAIDS BRASIL. Estatísticas. Disponível em: <<http://unaids.org.br/estatisticas/>>. Acesso em: 19 set. 2021.
24. VIDAL JE e BOULWARE DR. Lateral flow assay for cryptococcal antigen: an important advance to improve the continuum of hiv care and reduce cryptococcal meningitis-related mortality. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 2015; 57(19): 38-45.