



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA
CORDENAÇÃO GERAL DE DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS
UNIDADE DE VIGILÂNCIA DAS DOENÇAS DE TRANSMISSÃO RESPIRATÓRIA E IMUNOPREVENÍVEIS

Vigilância e Epidemiológica

Da

Criptococose

Documento preliminar

BRASÍLIA,DF

ABRIL DE 2012

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	3
2. ASPECTOS ECOLÓGICOS.....	5
3. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	6
4. VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA.....	9
5. ROTEIRO DE INVESTIGAÇÃO.....	11
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	14
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

Documento Preliminar

Sistema de Vigilância Epidemiológica da Criptococose

1. Introdução

A Criptococose, também conhecida por **Torulose, Blastomicose Européia, Doença de Busse-Buschke** é uma micose sistêmica causada por um complexo de fungos patogênicos identificados no gênero *Cryptococcus*.

Adquirida através da inalação de propágulos infectantes, inclui duas entidades clínicas distintas: (1) criptococose oportunística, cosmopolita, associada a condições de imunodepressão celular, causada por *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* e (2) criptococose primária, endêmica em áreas tropicais e subtropicais, ocorre em hospedeiros aparentemente normais, causada por *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. Ambas causam meningoencefalite de base, de evolução grave, fatal, acompanhada ou não de lesão pulmonar evidente, fungemia e focos secundários para pele, ossos, rins, supra-renal, entre outros.

Os primeiros isolamentos registrados destes agentes ocorreu de forma independente em 1894, por Sanfelice na Itália, que descreveu levedura capsulada isolada de suco de pêsego e identificada como patogênica para animal experimental em 1895, denominada *Saccharomyces neoformans*, e por Busse e Buschke na Alemanha, que identificaram forma disseminada em paciente do sexo feminino, observaram a forma arredondada da levedura em tecido ósseo, isolaram o agente em cultivo, denominando-o *Saccharomyces hominnis*. Estes médicos, um, dermatologista e cirurgião, e outro, patologista, descreveram pela primeira vez aspectos da clínica, patologia e micologia da criptococose e seu agente, base fundamental para os estudos e descrições de casos subseqüentes. Sanfelice em 1895 reconheceu a similaridade de seu isolado com o de Busse e Buschke. Em 1901 Vuilleman reviu estes isolados e transferiu-os para o gênero *Cryptococcus* (*Cryptococcus hominis* e *Cryptococcus neoformans*) porque estas leveduras não eram capazes de fermentar açúcares nem produzir ascospors, características básicas do gênero *Saccharomyces*. A partir de 1900 surgiram inúmeros relatos em humanos e também em animais, com progressivo reconhecimento do agente como patógeno relacionado a infecção do sistema nervoso central.

Desde então este agente mostrava sua diversidade e heterogeneidade, levando a freqüentes revisões taxonômicas, que ocorrem até hoje. Em 1949, Evans

identificou os sorotipos A, B e C, com base em diferente reatividade capsular frente a soros hiperimunes, sendo o D descrito posteriormente.

Emmons, em estudos de séries de solos nos EUA, usando predominantemente inoculação animal, demonstrou a evidente a associação e abundância de *C. neoformans* em solos com excretas e ninhos de pombos.

Em 1970 foi descrito um caso de meningite em menino do antigo Zaire, centro da África, com isolado de líquido atípico, constituído de leveduras capsuladas de formas alongadas, semelhantes a grãos de arroz, ao lado das formas usuais arredondadas, sendo este isolado denominado *C. neoformans* var. *gattii*, depois identificado como sorotipo B. A criptococose apresentava então aspectos epidemiológicos peculiares: ocorria mundialmente em associação a linfomas, uso de corticóides, diabetes melito, drogas imunodepressoras e tumores e seu agente *C. neoformans* var. *neoformans*, na maioria do sorotipo A, era facilmente isolado do ambiente associado a habitat de aves; por outro lado a criptococose ocorria também em áreas tropicais e subtropicais em indivíduos aparentemente normais, sem evidência de imunodepressão, apresentando-se como micose primária, causada por *C. neoformans* var. *gattii*, principalmente do sorotipo B, que nunca tinha sido isolado do ambiente e, portanto, tinha seu habitat natural ainda desconhecido.

A partir de 1980, na era AIDS, ocorreu aumento marcante da criptococose oportunística em todo mundo, o que gerou o interesse e marcada expansão da pesquisa sobre este agente.

Somente em 1990 foi descrito o isolamento de *C. neoformans* var. *gattii* associado a restos de eucaliptos na Austrália, primeiro habitat natural descrito para esta variedade. Em seguida, sucessivos trabalhos realizados no Brasil, demonstraram que ambas as variedades, *gattii* e *neoformans*, estão associadas a habitats naturais representados por madeira em decomposição em árvores tropicais, descrevendo um nicho natural potencialmente partilhado por estes agentes, seja em ambientes urbanos, rurais ou silvestres.

Marcadores moleculares têm sido usados para estudos taxonômicos e epidemiológicos, demonstrando a complexidade e o alto grau de diversidade

genética, além de instabilidade genotípica e fenotípica em cepas de origem clínica e ambiental. Aspectos da taxonomia e genética deste grupo de *Cryptococcus* patogênicos para o homem e outros mamíferos estão sob análise, fazendo prever que nos próximos anos ter-se-á uma visão mais clara sobre a posição taxonômica destes agentes.

2. Aspectos Ecológicos

Cryptococcus neoformans var. *neoformans* é cosmopolita, encontrado em ambientes relacionados a habitats de aves, presentes em excretas secas, ricos em fontes de nitrogênio como uréia e creatinina. Estes substratos permitem o crescimento abundante desta levedura e favorecem formação de microfocos, notadamente em centros urbanos, onde a exposição humana a esta variedade torna-se um evento do cotidiano. Elementos fúngicos viáveis encontram-se no ambiente domiciliar, particularmente na poeira doméstica, com elevada concentração demonstrada em estudos realizados na África, com 30 a 50% de positividade e na cidade do Rio de Janeiro, com 13% dos domicílios analisados contaminados. Além de pombos, outras aves também são importantes reservatórios, sobretudo aquelas relacionadas à criação em cativeiro no ambiente doméstico, como canários e periquitos.

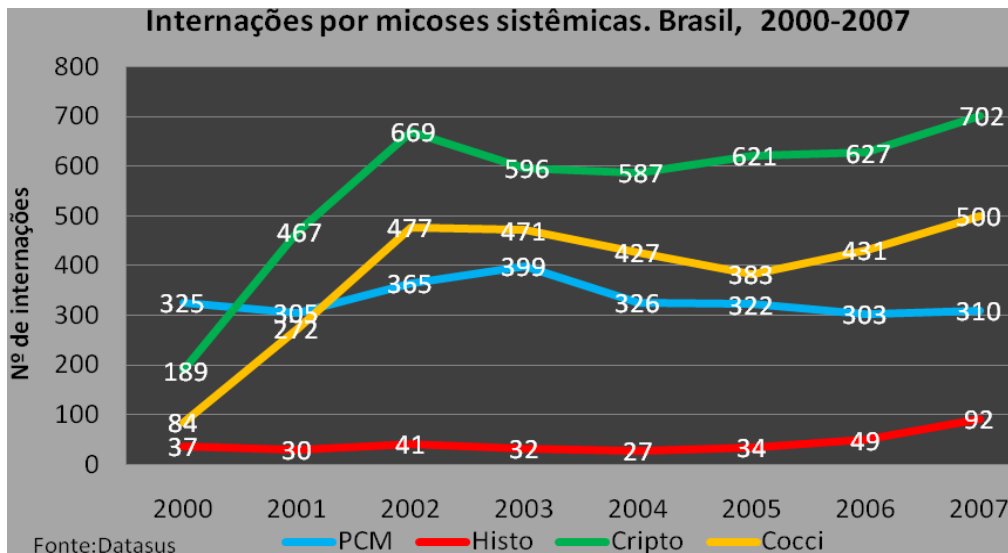
Outros substratos orgânicos são importantes no ciclo biológico deste agente em natureza, destacando-se os substratos vegetais. Fontes ambientais de *C. neoformans* var. *neoformans* foram progressivamente descritas, relacionados a decomposição de madeira em árvores tropicais no Rio de Janeiro (RJ), em Teresina (PI) (Figura 2), em Boa Vista e ilha de Maracá (RR), no interior do Amazonas e na cidade de São Paulo. Estes achados caracterizaram novo habitat natural relacionado a madeira em decomposição em diferentes árvores tropicais, nativas ou introduzidas no Brasil, como cassia rosa (*Cassia grandis*), cassia amarela (*Senna multijuga*), ficus (*Ficus microcarpa*), jabolão (*Syzygium jambolana*), cacauero (*Theobroma cacao*), cabori (*Miroxylum peruiferum*), sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides*), reafirmando sua ocorrência em diferentes regiões brasileiras, inclusive em árvores nativas da Floresta Atlântica e da Floresta Amazônica.

C. neoformans var. *gattii* ocorre principalmente em regiões tropicais e subtropicais, mas áreas de clima temperado não devem ser excluídas. O habitat natural desta variedade foi inicialmente descrito na Austrália, associado a restos vegetais de *Eucalyptus camaldulensis* e depois em outros países e outras espécies de eucaliptos. No Brasil, foi isolada no Parque Ibirapuera, na cidade de São Paulo, e em plantação de eucaliptos em Teresina (PI), relacionada a restos vegetais de *E. camaldulensis*. No entanto, estudos ambientais evidenciaram que esta relação var. *gattii*-eucalipto não é específica, demonstrando a ocorrência desta variedade em árvores tropicais de diferentes gêneros (cassia, oiti, ficus, mulungu, "guettarda") nas regiões Nordeste (semi-árido) e Norte (Amazônia úmida) do Brasil, bem como na Colômbia, em algodoeiro-da-praia .

Importa observar que ambas as variedades e diferentes sorotipos de *C. neoformans* podem ocorrer em separado ou simultaneamente num só habitat natural relacionado a processos de decomposição da madeira, um aspecto novo do ciclo biológico deste fungo em natureza.

3.Aspectos Epidemiológicos

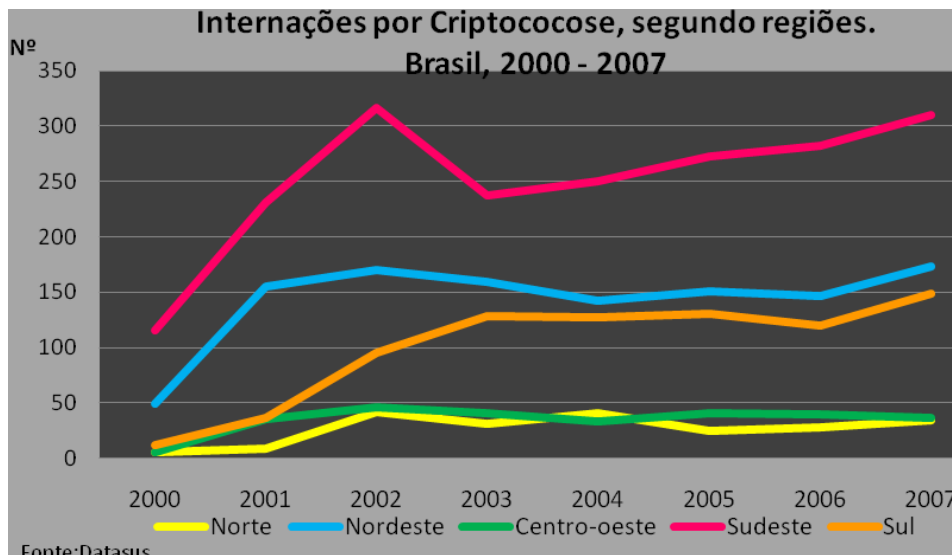
Dentre as micoses sistêmicas, a criptococose tem sido relatada como a mais prevalente em termos de internação. Dados do Sistema de Internação Hospitalar do Sistema Único de Saúde –SIH-SUS demonstram que a criptococose apresentou o maior número de internações no período de 2000 a 2007, como mostra o gráfico a seguir.



Distribuição geográfica – Devido ao seu caráter predominante de infecção oportunística, a ocorrência de criptococose por *C. neoformans* var. *neoformans* é cosmopolita e acompanha a prevalência dos casos humanos de condição de risco, principalmente imunodepressão por AIDS, linfomas, leucemias e uso de corticóides. A criptococose por *C. neoformans* var. *gattii* ocorre em regiões tropicais e subtropicais, em indivíduos sem evidência de imunodepressão, comportando-se como agente patogênico primário, de comportamento endêmico ou focal.

Nas regiões Sul e Sudeste do Brasil predomina a criptococose associada à AIDS, em homens, causada pela variedade *neoformans*, sendo a letalidade de cerca de 35 a 40%. Casos por variedade *gattii* importados ou não de outras regiões do país ocorrem esporadicamente também nas regiões Sul e Sudeste.

A criptococose ocorre como primeira manifestação oportunística em cerca de 4,4 % dos casos de AIDS no Brasil e estima-se a prevalência da criptococose associada a AIDS entre 8 e 12% em centros de referência da região sudeste.



O gráfico acima demonstra maior nº de casos internados na região sudeste, corroborando as informações anteriores, talvez pela maior notificação de casos de AIDS nestas regiões.

Observações recentes mostraram que a criptococose *gattii* pode ocorrer em áreas de clima temperado e apresentar-se em forma epidêmica, com manifestações pulmonares e do SNC, como aconteceu recentemente em Vancouver, Canadá .

Mundialmente a criptococose por *C. neoformans* var. *neoformans* atinge indivíduos imunocomprometidos acompanhando o sexo e idade dos grupos de risco. Entretanto, nas regiões Norte e Nordeste do Brasil predominam casos de criptococose em indivíduos sem evidência de imunodepressão, tanto no sexo masculino quanto no feminino, HIV-negativos, causados pela variedade *gattii*, comportando-se esta micose como endemia regional, como demonstrado no gráfico acima. A meningoencefalite criptocócica ocorre em nativos destas regiões, incluindo jovens e crianças, com elevada morbidade e letalidade (37 a 49%), revelando padrões regionais marcadamente distintos da criptococose por var. *neoformans*, amplamente predominante nas regiões Sudeste e Sul do País.

Transmissão - A infecção natural ocorre por inalação de propágulos presentes no meio ambiente sob a forma de leveduras desidratadas, de tamanho reduzido, 2 a 3 μm de diâmetro, ou sob a forma de basidiósporos produzidos no ciclo sexuado, elementos de 2 a 4 μm de diâmetro, resistentes às condições ambientais,

apontados como prováveis propágulos infectantes. No entanto, até o momento a fase sexuada só foi reproduzida “in vitro” e, seja por limitações do método usado, seja por ser evento errático, ainda não foi demonstrada em natureza.

Microfocos relacionados a habitats de aves, madeira em decomposição em árvores, poeira domiciliar, outros habitats como de morcegos e outros animais, onde houver concentração estável de matéria orgânica, podem representar fontes ambientais potenciais para a infecção. Distúrbios destes ambientes podem precipitar ou aumentar a dispersão aérea de propágulos infectantes. Pacientes com AIDS em cujas casas o agente foi encontrado apresentaram um risco aumentado de adquirir criptococose por *C. neoformans* var. *neoformans*. Até o momento não houve comprovação de surto ou epidemia por *C. neoformans* var. *neoformans*, mas com relação à variedade *gattii* há evidências recentes de que surtos ou epidemias em animais e humanos possam ocorrer.

Após o evento pulmonar inicial a infecção evolui como quadro regressivo e formação de eventuais focos extra-pulmonares, de estrutura tecidual granulomatosa nos hospedeiros normais. Focos residuais, de infecções latentes, podem reativar anos após, por ocasião de condições de imunodepressão celular. Testes intradérmicos para inquéritos populacionais não são utilizados devido à inexistência de um antígeno adequado, mas já existem evidências iniciais, através estudo sorológico de anticorpos, de que a infecção possa ocorrer desde a infância.

4. Vigilância Epidemiológica da Criptococose

Pela grande importância que vem tendo a Criptococose como problema de saúde pública, o Ministério da Saúde por meio da Secretaria de Vigilância em Saúde, está implantando o Programa de vigilância e Controle das Micoses Sistêmicas, aí incluída a Criptococose.

Tal Programa apresenta como objetivo geral para a Criptococose, o desenvolvimento de um sistema de vigilância para determinar a magnitude da infecção no país.

Como objetivos específicos

- ✓ Estimar a prevalência, caracterizar formas clínicas e distribuição geográfica da Criptococose,
- ✓ Estimar índices de mortalidade da Criptococose;
- ✓ Diagnosticar precocemente e tratar oportuna e adequadamente os casos;
- ✓ Apoiar e promover o desenvolvimento técnico-científico na área, disponibilizando para rede de serviços de saúde, novos instrumentos diagnósticos, terapêuticos e de controle da doença.

Definição de caso:

A definição de caso está vinculada às condições do hospedeiro

Caso suspeito

Hospedeiro sem fator de risco evidente

- ❖ Paciente , criança ou adulto, com uma ou mais das seguintes manifestações, durante pelo menos quatro semanas, excluída a tuberculose e outras doenças que cursam com quadro semelhante:
 - ✓ Cefaléia intensa e prolongada
 - ✓ Diplopia
 - ✓ Estrabismo
 - ✓ Nativo ou habitante das regiões norte, nordeste e centro-oeste

Hospedeiro COM fator de risco (Aids, Diabetes, Tuberculose, Alcoolismo, Gravidez)

- ✓ Clínica é inespecífica
- ✓ Imunodepressão celular
- ✓ Liquor com pouca reação inflamatória
- ✓ Lesão pulmonar periférica

Caso provável

- Paciente com manifestações clínicas compatíveis com criptococose e forte vínculo epidemiológico, com exame do látex positivo.

Caso confirmado

- Paciente com manifestações clínicas compatíveis com criptococose em cuja secreção, fluido corporal ou material de lesão foi observada a presença de C.neoformans, por exame micológico direto, cultura ou exame histopatológico.

Caso descartado

- Caso suspeito, com diagnóstico laboratorial negativo, desde que se comprove adequação na coleta e transporte das amostras.
- Caso suspeito, com diagnóstico confirmado de outra doença.

Notificação

As micoses sistêmicas não são doenças de notificação; a criptococose tem sido notificada como infecção oportunista quando ocorre em pacientes com AIDS ou quando existe a ocorrência de surtos.

Primeiras medidas a serem adotadas

- **Assistência médica ao paciente:** A grande maioria dos casos de Criptococose é considerada grave e os pacientes devem ser hospitalizados, preferencialmente nas unidades de referência, de maior complexidade.
- **Qualidade da assistência:** verificar se os casos estão sendo atendidos em unidade de saúde com capacidade de prestar atendimento adequado e oportuno. Na maioria das vezes, os pacientes internados necessitam de cuidados permanentes e contínuos, demandando internação em unidades de saúde de maior complexidade. Neste caso, avaliar o encaminhamento e/ou transferência para hospital de referência definido pela SES.
- **Confirmação diagnóstica:** a equipe de assistência deve fazer encaminhamento das amostras a serem analisadas, para o laboratório, acompanhadas de solicitação médica, e ficha epidemiológica devidamente preenchida, com informações sobre os dados clínicos, e a suspeita diagnóstica, para orientar o laboratório no processo de investigação e identificação do agente. O LACEN é o laboratório de referência para o diagnóstico e confirmação da doença/infecção. No caso de exames de maior complexidade, o LACEN deverá

encaminhar as amostras para o Laboratório de Referência Regional ou mesmo para o Laboratório de Referência Nacional. O fluxo de encaminhamento de amostras deverá estar acordado entre o Hospital de Referência, a Vigilância da SES e a Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública/SVS/MS.

► **Proteção da população:** após suspeição do caso, deve-se proceder a esclarecimento à população, mediante visitas domiciliares, palestras na comunidade, a fim de repassar informações acerca da doença, gravidade e medidas de prevenção quando disponíveis.

5. Roteiro de Investigação

Investigação :

❖ Deve-se proceder a investigação epidemiológica frente à notificação de um ou mais casos do mesmo agravo, para que se obtenha informações quanto à caracterização clínica do caso (incluindo a análise dos exames laboratoriais), quanto às possíveis fontes de infecção e para a avaliação das medidas de controle cabíveis em cada situação. O instrumento de coleta de dados - a ficha de investigação epidemiológica, a ser elaborada pela vigilância epidemiológica, deverá conter os elementos essenciais a serem coletados em uma investigação de rotina. Todos os campos desta ficha deverão ser criteriosamente preenchidos, mesmo quando a informação for negativa.

Identificação do paciente:

► A ficha de investigação epidemiológica- FIE específica para criptococose, deve conter campos que permitam coletar os dados das principais características clínicas e epidemiológicas da doença, bem como dados secundários de início de tratamento, medicação utilizada, evolução e acompanhamento.

Coleta de dados clínicos e epidemiológicos:

Para confirmar a suspeita diagnóstica: deve-se consultar o prontuário e entrevistar o médico assistente, para completar as informações clínicas sobre o paciente.

⇒ Verificar se preenche a definição de caso.

⇒ Verificar coleta e resultados de exames encaminhados ao laboratório.

⇒ Verificar a evolução do(s) paciente(s).

O encaminhamento de material para diagnóstico laboratorial é fundamental para auxiliar o resultado da investigação. O material deverá ser acompanhado de ficha contendo todas as informações sobre o caso.

- ✓ Em caso de óbito, tentar realização de necropsia logo após o óbito, coletando amostras de fluidos e tecidos, para tentativa de isolamento e/ou identificação do agente.
- ✓ Os hospitais, os profissionais de saúde da região e a comunidade deverão ser alertados da ocorrência da doença, a fim de que possam estar atentos para o diagnóstico precoce e tratamento oportuno de outros casos.
- Para identificação e determinação da extensão da área de transmissão: deve-se verificar se o local de residência, trabalho ou lazer corresponde às áreas de provável fonte de infecção. Observar a ocorrência de animais domésticos ou silvestres na área.

Na vigência de um maior número de casos, deverá ser feita uma investigação epidemiológica, a fim de se tentar chegar aos mecanismos prováveis de transmissão e a extensão da área de transmissão. Uma entrevista nos domicílios acometidos, e com moradores deverá ser feita, com perguntas objetivas que devem caracterizar a evolução da doença na área, assim como a situação socioeconômica, sua história, transformações sofridas no tempo e no espaço, relações de trabalho, e possível relação desses dados com a doença em questão.

Caso se faça necessário aprofundar na questão da determinação epidemiológica da doença, poder-se-á partir para um inquérito sorológico.

- Coleta e remessa de material para exames:

Logo após a suspeita clínica de criptococose, coletar material para exames específicos micológico e sorológico e quando for o caso, histopatológico. Preferencialmente colher o liquor para ser submetido ao exame direto, ou mesmo látex.

■ Encerramento de casos: o caso é considerado encerrado a partir da análise das Fichas de Investigação Epidemiológica, onde se deve ter em mente a definição de qual foi o critério utilizado para o diagnóstico, considerando as seguintes alternativas:

- Confirmado por critério clínico-laboratorial: paciente com quadro clínico compatível com a doença, associado à comprovação laboratorial (isolamento, ou procedimento imunológico, ou histopatologia).
- Confirmado por critério clínico-epidemiológico : todo caso suspeito que apresente sinais e sintomas clínicos da doença, com antecedentes de risco ou não, atividade laboral na manipulação de madeira, associado ou não a imunossupressão, e quando não se confirme outra doença.
- Óbitos : serão considerados confirmados os óbitos de pacientes que apresentaram manifestações clínicas compatíveis com a criptococose, e onde há comprovação laboratorial da presença do fungo.
- Descartado : caso notificado, cujos resultados dos exames laboratoriais, adequadamente coletados e transportados, foram negativos, ou tiveram como diagnóstico outra doença.

■ Análise de dados e relatório final: a análise dos dados obtidos pela vigilância tem como objetivo proporcionar conhecimentos atualizados sobre as características epidemiológicas, no que diz respeito à distribuição de sua incidência, por áreas geográficas e grupos etários, formas clínicas e taxas de mortalidade.

Informações à respeito da data dos primeiros sintomas, freqüência e distribuição dos principais sinais e sintomas, área geográfica, ocupação, evolução do caso, serão úteis nas análises que permitirão definir o perfil epidemiológico dos indivíduos acometidos e expostos, bem como o local ou locais de ocorrência da doença.

Os relatórios finais elaborados a partir da análise dos dados são essenciais para acompanhar a tendência da doença, bem como para se instituir e recomendar as medidas de controle pertinentes.

Instrumentos disponíveis para controle

■ Ações de educação em saúde – a maioria destas ações exige participação de populações expostas, sendo fundamental o repasse das informações acerca da doença, risco de aquisição, etc, as quais devem ser divulgadas, mediante técnicas pedagógicas disponíveis e meios de comunicação, esclarecendo a importância da doença. Neste caso deve ser divulgada a importância da **não** alimentação de pombos em praças e ambientes públicos.

■ Estratégias de prevenção – Propor medidas de prevenção e controle pertinentes, sobretudo as relacionadas ao controle ambiental da população de pombos. A Vigilância Epidemiológica deverá atuar em parceria com a Vigilância Ambiental para controle dessas aves, aos profissionais de saúde, promovendo capacitação freqüente e alertar para o diagnóstico diferencial com outras doenças.

6. Considerações finais

Diversas etapas estão sendo desenvolvidas no processo de organização do Programa de Micoses Sistêmicas, tais como a elaboração de um plano estratégico para estruturar todo o programa, desde a organização da rede de assistência, até a disponibilização de medicamentos, elaboração de protocolo clínico específico para cada micose, elaboração de ficha de investigação, desenvolvimento do sistema de informações, entre outras.

A presente proposta de e Vigilância Epidemiológica e controle da Criptococose consiste no documento preliminar de orientação às atividades de vigilância epidemiológica da Criptococose para sua inserção na implantação do Programa de Vigilância e Controle das Micoses Sistêmicas.

A implantação desta proposta, permitirá o conhecimento da situação epidemiológica da doença, bem como a distribuição de ocorrência das diferentes espécies e suas características clínicas. Da mesma forma, pretende-se estabelecer a doença na agenda do SUS, definindo para os gestores, em nível federal, estadual e municipal, as responsabilidades quanto à assistência aos portadores deste agravo.

7. Referências Bibliográficas:

1. Corrêa MPCs, Oliveira EC, Duarte RRBS, Pardal PPO, Oliveira, FM, Severo LC 1999. Criptococose em crianças no estado do Pará, Brasil. Rev Soc Bras Med Trop 32: 505-508.
2. Corrêa MPCs, Severo LC, Oliveira FM, Irion K, Londero AT 2002. The spectrum of computerized tomography (CT) findings in central nervous system (CNS) infection due to *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in immunocompetent children. Rev Inst Med Trop São Paulo 44: 283-287.
3. Darzé C, Lucena R, Gomes I, Melo A 2000. Características clínicas e laboratoriais de 104 casos de meningite criptocócica. Rev Soc Bras Med Trop 33: 21-26.
4. Diamond R D 2000. *Cryptococcus neoformans*. In Mandell GL, Bennet JE, Dollin R (eds). In *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 4th ed. Churchill Livingstone, Pennsylvania, p 2331-2340.

5. Fortes ST, Lazera MS, Nishikawa MM, Macedo RCL, Wanke B 2001. First isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from a native jungle tree in the Brazilian Amazon rainforest. *Mycoses* 44: 137-140.
6. Igreja RP, Lazera MS, Wanke B, Gutierrez Galhardo MC, Kidd E, Meyer W 2004. Molecular epidemiology of *Cryptococcus neoformans* isolates from AIDS patients of the Brazilian city, Rio de Janeiro. *Med Mycol* 42: 229-238.
7. Kwon-Chung KJ, Bennett JE 1992. Cryptococcosis. In: *Medical Mycology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1st. Ed. Philadelphia, p. 392-446.
8. Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT 2002. Criptococose. In Lacaz CS, Porto E, Martins JEC, Heins-Vaccari EM, Melo NT (eds), *Tratado de Micologia Médica Lacaz*, Sarvier Editora de Livros Médicos Ltda., São Paulo, p. 416-440.
9. Lazera MS, Wanke B, Nishikawa MM 1993. Isolation of both varieties of *Cryptococcus neoformans* from saprophytic sources in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Vet Mycol* 31: 449-454.
10. Lazera MS, Pires FDA, Camillo-Coura L, Nishikawa MM, Bezerra CCF, Trilles L, Wanke B 1996. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* in decaying wood forming hollows in living trees. *J Med Vet Mycol* 34: 127-131.
11. Lazera MS, Cavalcanti MAS, Trilles L, Nishikawa MM, Wanke B 1998. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in a pottery tree hollow - evidence for a natural habitat related to decaying wood. *J Med Vet Mycol* 36: 119-122.
12. Martins LMS 2003. Epidemiologia da criptococose em crianças e adultos jovens e diversidade de *Cryptococcus neoformans* no Meio Norte do Brasil. Tese de Mestrado, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ (Rio de Janeiro).
13. Ministério da Saúde 2000. Distribuição das Doenças Associadas, Síntomas e Sintomas, no Momento da Notificação do Caso de Aids entre Indivíduos com 13 anos de Idade ou mais, por Período de Diagnóstico. Brasil. 1980 - 2000. Boletim Epidemiológico Aids.

14. Nishikawa MM, Lazera MS, Barbosa GG, Trilles L, Balassiano BR, Macedo RCL, Bezerra CCF, Pérez MA, Cardarelli P, Wanke B 2003. Serotyping of 467 *Cryptococcus neoformans* isolates from clinical and environmental sources in Brazil: analysis of host and regional patterns. *J Clin Microbiol* 41: 73-77.
15. Passoni LFC, Wanke B, Nishikawa MM, Lazera MS 1998. *Cryptococcus neoformans* isolated from human dwellings in Rio de Janeiro, Brazil: an analysis of the domestic environment of AIDS patients with and without cryptococcosis. *Med Mycol* 36: 305-311.
16. Pinto Júnior VL 2003. Criptococose associada a AIDS. Análise da casuística do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas-FIOCRUZ entre 1987 e 2002. Tese de Mestrado, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ (Rio de Janeiro).
17. Rozenbaum R, Gonçalves AJR 1994. Clinical epidemiological study of 171 cases of cryptococcosis. *Clin Infect Dis* 18: 369-380.
18. Trilles L, Lazera M, Wanke B, Theelen B, Boekhout T 2003. Genetic characterization of environmental isolates of the *Cryptococcus neoformans* species complex from Brazil. *Med Mycol* 41: 383-390.