

## Meningite criptococcica come prima manifestazione clinica in soggetto HIV+

### Cryptococcal meningitis as the first clinical presentation of HIV infection

#### Summary

Cryptococcal meningitis is a brain infection caused by a fungus called *Cryptococcus neoformans*. Many people have been exposed to *Cryptococcus* during their lives, but the immune system usually stops the fungus from causing illness. When the immune system is weakened by HIV, the fungus can cause illness. The most common illness caused by *Cryptococcus* is the cryptococcal meningitis, a serious infection in immunodeficient subjects. The authors describe a clinical case in a patients with unknown HIV positivity. Cryptococcal meningitis as the initial presentation of HIV infection is reported in only one case in Nigeria.

Ober P, Predazzer R, Gaino M, et al. Cryptococcal meningitis as the first clinical presentation of HIV infection. *Trends Med* 2011; 11(2):85-89.

©2011 Pharma Project Group srl. ISSN: 1594-2848

**Patrizia Ober<sup>1</sup>, Rosanna Predazzer<sup>1</sup>, Marina Gaino<sup>1</sup>, Daniela Fait<sup>2</sup>, Nicoletta Dorigoni<sup>2</sup>, Claudio Paternoster<sup>2</sup>, Paolo Lanzafame<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>U.O. Microbiologia e Virologia

<sup>2</sup>U.O. Malattie Infettive

Ospedale S. Chiara, Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari. Provincia Autonoma di Trento – Trento

#### Key words:

**cryptococcal meningitis**

**cryptococcosis**

**HIV**

✉ **Patrizia Ober**

Ospedale S. Chiara, Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari  
Provincia Autonoma di Trento  
Largo medaglie d'Oro, 9  
38100 Trento  
Tel. +39.0461.903270  
Fax +39.0461.903615  
e-mail: patrizia.ober@apss.tn.it

#### Introduzione

*Cryptococcus neoformans* è un fungo lievitifforme, rotondeggiante e capsulato, in base ai determinanti antigenici del polisaccaride capsulare, si distinguono 4 sierotipi: A, B, C, D.

Studi genetici e biochimici hanno accertato l'esistenza di due varianti del micete: *Cryptococcus neoformans var. neoformans* che include i sierotipi A e D, e *C. neoformans var. gattii* che comprende i sierotipi B e C. *C. neoformans var. neoformans* ha diffusione ubiquitaria e in natura si trova associato alle deiezioni dei piccioni ed è responsabile della maggioranza dei casi di criptococcosi umana.

La criptococcosi è una micosi presente in tutto il mondo, abitualmente benigna, a limitazione spontanea e clinicamente asintomatica; essa è emersa, dal punto di vista epidemiologico, come malattia ingravescente, in parallelo all'infezione da HIV. Nei malati di AIDS la malat-

tia si manifesta spesso in maniera acuta, in contrapposizione all'andamento cronico che presenta nei soggetti immunocompetenti.

Talora si manifesta con una sindrome respiratoria acuta, che nei soggetti immunocompromessi e, in particolare, in pazienti affetti da AIDS può assumere carattere di gravità; in questi casi può anche disseminarsi e raggiungere il sistema nervoso centrale.

La via di ingresso è costituita dall'inalazione di spore fungine con conseguente infezione polmonare. In assenza di una risposta immunitaria efficace, il fungo può propagarsi al sistema nervoso centrale (SNC) per via ematogena e causare meningoencefaliti, i cui sintomi possono includere cefalea, febbre, problemi visivi e alterazioni dello stato mentale. Talora si manifesta con sola cefalea per cui nei pazienti con AIDS conclamato in cui sia comparso questo sintomo, è ne-

cessario procedere ad esame del liquido cefalo-rachidiano (LCR). Lo spiccato trofismo per il SNC sembra essere dovuto all'abbondante presenza in questo tessuto di catecolamine, che fungono da substrato per l'enzima fungino fenolo-ossidasi. A livello del SNC il criptococco causa solitamente una meningite a liquor limpido; l'analisi chimico-fisica mostra spiccata ipoglicorachia, incremento delle proteine e modesta pleiocitosi linfomonocitica sebbene a volte predomina una neutrofilia. Tuttavia nei pazienti con infezione da HIV la cellularità può essere completamente assente e si accompagna per converso ad una carica micotica molto elevata. La meningite criptococcica è una delle più comuni infezioni opportunistiche in corso di AIDS e si manifesta in prevalenza quando la conta di linfociti T CD4+ scende sotto la soglia di 200/ $\mu$ l.; si presenta in forma grave e richiede un immediato, attento e protratto intervento terapeutico.

La comparsa di meningite criptococcica, unita al riscontro concomitante di sierologia positiva per infezione da HIV, costituisce un segno prognostico del passaggio alla malattia AIDS conclamata.

*Cryptococcus neoformans* causa circa 1 milione di casi al mondo per anno nei pazienti con AIDS, portando approssimativamente a 625.000 decessi. In alcune aree dell'Africa sub-sahariana i casi di morte per criptococcosi superano quelli causati dalla tubercolosi.

Di seguito si descrive un caso di meningite criptococcica insorta in paziente risultato HIV positivo che in precedenza non aveva mai avuto altre manifestazioni cliniche e lo stato di sieropositività era misconosciuto fino al momento della diagnosi di me-

ningite criptococcica. Dall'analisi della letteratura casi di criptococcosi come prima diagnosi in AIDS sono estremamente rari e risulta descritto solo un caso di HIV in un paziente nigeriano presentatosi con un quadro di meningite criptococcica.

### Caso clinico

Paziente di sesso maschile di anni 30, ricoverato in data 26.09.2010 presso il reparto di Medicina per la presenza di cefalea ingravescente associata a rialzo termico intermittente da circa dieci giorni.

In anamnesi pregressa epatite B, intervento chirurgico per cisti del coledoco all'età di 6 anni, da circa un mese presenza di patericcio al IV e V dito della mano sinistra e calo ponderale di circa 20 Kg negli ultimi sei mesi.

Al momento del ricovero l'obiettività clinica evidenziava un discreto impaccio ai movimenti del collo, senza un franco rigor nuchalis, iperpiressia e presenza di diffusa candidosi al cavo orale estesa a tutto il faringe. Agli esami ematochimici modesto incremento delle transaminasi, leucopenia con spiccata linfocitopenia, positività degli anticorpi anti-HIV. In data 28.09.2010 il paziente veniva trasferito presso il Reparto di Malattie Infettive. Il quadro clinico all'ingresso era caratterizzato da importante cefalea nucale associata a discreto rallentamento ideomotorio. Non erano presenti chiari segni di irritazione meningea. Veniva eseguita rachicentesi che dava esito a liquor iperteso, limpido, incolore, citometria nella norma (1 linfocita), reazione di Pandy negativa, proteine totali 32 mg/dl, glicorrachia 35 mg/dl. Presenza di numerose blastospore riferibili morfologicamente a *Cryptococcus* spp. all'esame

microscopico del sedimento con successiva crescita in coltura di *Cryptococcus neoformans* sensibile ad amfotericina B, fluconazolo e itraconazolo, sensibilità intermedia a 5-fluorocitosina, resistenza a caspofungina. Risultavano positive per *Cryptococcus* anche le emocolture eseguite in data 29.09.2010 così come la ricerca dell'antigene criptococcico su liquor (titolo 1:10.000) e su siero (titolo 1:20.000). Alla risonanza magnetica (RMN) dell'encefalo assenza di lesioni riferibili a criptococchi. La tipizzazione linfocitaria evidenziava una marcata immunodepressione con numero di CD4 in valore assoluto pari a 5 cellule/mcL (1.6%), con viremia plasmatica (HIV-RNA) di 169.000 copie/ml. Posta diagnosi di meningite criptococcica in AIDS veniva iniziato trattamento antifungino con amfotericina B liposomiale 3 mg/kg/die e.v. + fluconazolo 400 mg/die e.v., associato a terapia antiretrovirale con tenofovir/emtricitabina + atazanavir/ritonavir. Nonostante l'inizio tempestivo del trattamento le condizioni cliniche del paziente si sono mantenute critiche per oltre un mese dal momento del ricovero. Il decorso è stato complicato dalla comparsa di ripetuti episodi comiziali di breve durata che hanno richiesto un attento monitoraggio elettroencefalografico e l'introduzione in terapia di un farmaco antiepilettico (levetiracetam). La risposta alla terapia antifungina è stata estremamente lenta con persistenza di elevati titoli dell'antigene criptococcico sia nel liquor che nel siero e presenza di blastospore, seppure in basso numero anche all'esame liquorale eseguito pochi giorni prima della dimissione avvenuta in data 26.11.2010. Nel post-ricovero le

condizioni del paziente sono andate progressivamente migliorando, con normalizzazione dei traccati elettroencefalografici e graduale ripresa delle normali occupazioni quotidiane. E' tuttora in corso trattamento antifungino di mantenimento con fluconazolo 600 mg/die per os, sospeso il trattamento antiepilettico, potenziato quello antiretrovirale con aggiunta di maraviroc 300 mg/die, allo scopo di ottenere un più rapido recupero immunitario: attualmente HIV-RNA <20 copie/ml con CD4 pari a 61/mcL (4.4%). Ag criptococcico su siero ancora positivo, con titolo in calo: 1:580.

**Risultati microbiologici:** La diagnosi microbiologica di laboratorio si è basata su varie evidenze: l'esame chimico-fisico del liquido cefalo-rachidiano, l'osservazione microscopica diretta a fresco e dopo colorazione con inchiostro di china (India-ink), l'esame colturale, la dimostrazione dell'antigene polisaccaridico

criptococcico nel siero e nel liquor e infine la positivizzazione delle emocolture.

Al ricovero il campione di LCR si presentava sub-limpido, senza elementi cellulari e con valori di proteinoracchia e glicoracchia nella norma. All'osservazione a fresco in camera di conta per la determinazione della cellularità si evidenziavano numerose blastospore, morfologicamente riferibili, dopo colorazione con inchiostro di china, a *Cryptococcus spp*, riscontro successivamente confermato dall'esame colturale e dall'identificazione biochimica.

L'esame colturale è stato eseguito seminando il sedimento ottenuto mediante centrifugazione a 3000 rpm per 10 min. su piastre di Trypticase-Soy agar con 5% di sangue di pecora, Chocolat Enrichment agar e Sabouraud Dextrose agar (Kima, Italia), incubate a 37 ° C per 24-48 h, e inoculando un aliquota di campione in un flacone di brodocoltura Si-

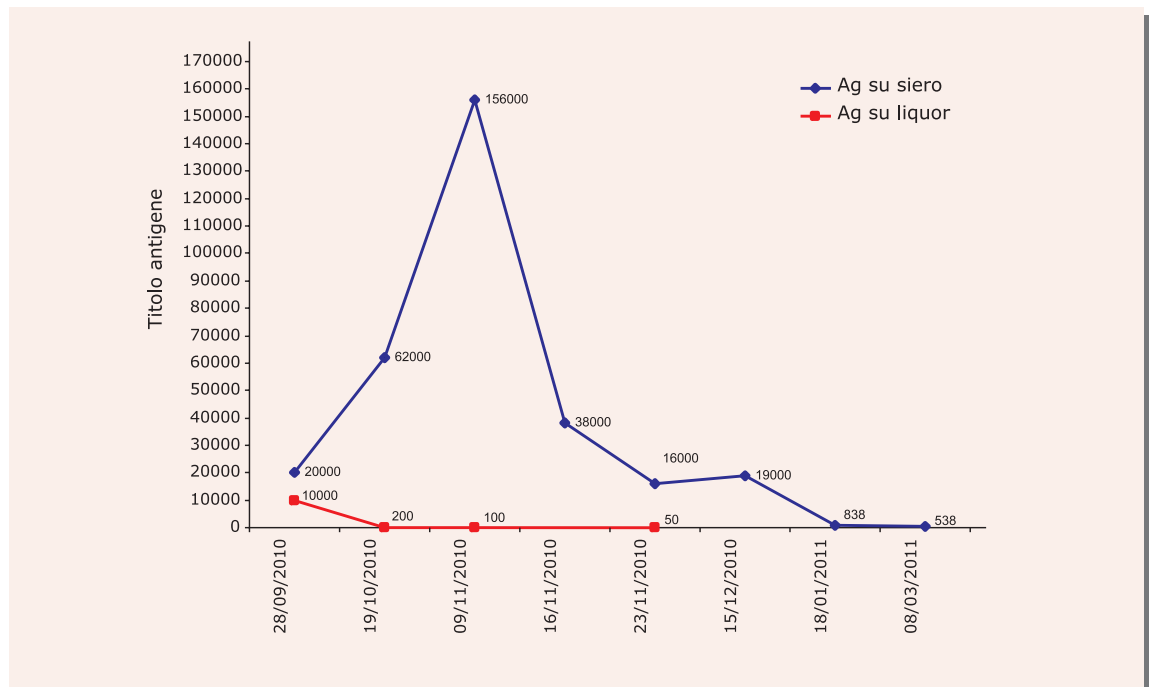
gnal Blood (Oxoid, UK) incubata per 5 giorni.

Sui terreni solidi, dopo 24 ore, si è rilevato sviluppo di colonie cremose, rotondeggianti, di colore bianco, tendenti ad assumere colorazione brunastra col trascorrere del tempo, sulle quali è stata eseguita l'identificazione biochimica mediante galleria API 32C (Biomerieux, Francia) e sul ceppo isolato è stata valutata la sensibilità ai farmaci antimicotici tramite test YeastOne® (Sensititre®).

Il microrganismo è risultato sensibile ad amfotericina B, fluconazolo, itraconazolo e voriconazolo, sensibilità intermedia a 5-fluorocitosina e resistente a caspofungina, ulteriore conferma dell'esatta identificazione dell'agente causale.

Al termine dei 5 giorni di incubazione della brodocoltura con il primo campione di liquor, le subcolture effettuate non hanno rilevato alcuna crescita; alla luce di questo, i campioni di liquor

**Figura 1.** Andamento del dosaggio dell'antigene criptococcico nel siero e nel LCR.



inviati successivamente sono stati inoculati in fiasca BD BACTEC™ Plus + Aerobic/F ed incubati nello strumento Bactec 9240 (Becton Dickinson, USA). Alla positivizzazione del campione, dopo 10 giorni di incubazione, si è proceduto all'allestimento del vetrino da sottoporre a colorazione di Gram e subcoltura su terreni solidi che hanno confermato lo sviluppo di *Cryptococcus neoformans*.

Campioni ripetuti di siero e di LCR sono stati sottoposti alla ricerca qualitativa dell'antigene criptococcico mediante test immunoenzimatico *Cryptococcal Antigen* (Premier™ Meridian Bioscience, USA) e data la positività del test su entrambi i materiali è stata successivamente eseguita la determinazione quantitativa mediante opportune diluizioni seriali.

Il calcolo del titolo è stato effettuato moltiplicando l'assorbanza ottenuta per il fattore di diluizione secondo le istruzioni della ditta produttrice e si sono così ottenuti titoli di 1:20.000 su siero e di 1:10.000 su liquor alla prima determinazione.

Le successive determinazioni eseguite sui campioni inviati, al fine di monitorare la terapia antifungina adottata, hanno mostrato un andamento del titolo su siero che ha dapprima raggiunto un picco di 1:156.000 a

circa sei settimane dal ricovero e poi una significativa diminuzione attorno ai due mesi dall'inizio della terapia al valore di 1:38.000, fino ad arrivare ai bassi valori di 1:538 a circa cinque mesi di distanza.

I dosaggi effettuati nel tempo sui campioni di liquor hanno mostrato una significativa diminuzione di titolo che nel giro di tre settimane dal ricovero è sceso dal valore iniziale di 1:10.000 fino alla diluizione di 1:200 e dopo circa due mesi 1:50 (figura 1).

## Conclusioni

La meningite criptococcica è una delle più comuni infezioni opportunistiche in corso di AIDS e si manifesta in prevalenza quando la conta di linfociti T CD4+ scende sotto la soglia di 200/μl.; si presenta in forma grave e richiede un immediato, attento e protratto intervento terapeutico.

Nei malati di AIDS la malattia si manifesta spesso in maniera acuta, in contrapposizione all'andamento cronico che presenta nei soggetti immunocompetenti. La comparsa di meningite criptococcica, unita al riscontro concomitante di sierologia positiva per infezione da HIV, costituisce un segno prognostico del passaggio alla malattia AIDS conclamata. Dall'esame della

letteratura è stato segnalato un solo caso di AIDS che ha presentato come prima manifestazione clinica una meningite criptococcica; nel caso descritto il paziente, un soggetto giovane senza apparenti fattori di rischio e comorbilità, presenta una sintomatologia inizialmente caratterizzata da cefalea ingravescente, febbre e marcato calo ponderale e, solo dopo circa dieci giorni, comparsi di altri sintomi neurologici. La necessità di sospettare un quadro meningoencefalitico anche in presenza di sola cefalea ingravescente senza altre possibili cause è bene evidenziata dal quadro clinico del caso riportato che dimostra quanto sia importante giungere rapidamente a una diagnosi eziologica per impostare tempestivamente un'adeguata terapia. Il paziente ha avuto un *outcome* favorevole anche se la risposta alla terapia è stata lenta ma il dosaggio seriale dei titoli di antigene criptococcico nel sangue e nel liquor ha consentito di monitorare in modo corretto e puntuale la risposta alla terapia antifungina.

Il caso descritto costituisce la prima segnalazione in Italia e la seconda nella letteratura internazionale di AIDS, altrimenti sconosciuto, evidenziatosi con una meningite criptococcica come prima manifestazione clinica. **TiM**

## Bibliografia

1. **Alberg JA, Watson J, Segal M, et al.** Clinical utility of monitoring serum cryptococcal antigens (sCRAG) titers in patient with AIDS-related cryptococcal disease. *HIV Clin Trials*; 2000, 1:1-6.
2. **Albuquerque ME, Neuman RMM, Rozele FAM, et al.** *Cryptococcus neoformans* causing meningitides in AIDS patient: Rev de Soc Bras De Medic Trop; 2002; 35:537-539.
3. **Busari OA, Adeyemi AO, Agboola SM.** Cryptococcal meningitis in AIDS. *The Int J Infect Dis*; 2009; Vol 7, N° 1.
4. **Esposito R, Uberti Foppa C.** Infezioni del sistema nervoso. In: Moroni M, Esposito R, De Lalla F. *Manuale di malattie infettive*. Ed. Masson Milano, 2003, cap 14:651-652.
5. **Khanna N, Chandramukhi A, Desai A, et al.** Cryptococcal infections of the central nervous system: An analysis of predisposing factors, laboratory findings and outcome in patients from South India with special reference to HIV infection. *J Med Microbiol* 1996;45:376-379.
6. **Kovarik CL, Barnard JJ.** Fatal disseminated *Cryptococcus* as the initial presentation of HIV

- infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *J Forensic Sci* 2009; 54 (4):927-929.
7. **Kronstad JW, Attarina R, Cadieux B, et al.** Expanding fungal pathogenesis: *Cryptococcus* breaks out the opportunistic box. *Nature Reviews* 2011; 9:193-203.
  8. **Jorgensen JH, Turnidge JD, Arikan S, et al.** Antifungal agents and susceptibility test methods in Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. *Manual of clinical microbiology*; ASM PRESS, Washington, D.C. 2007:1951.
  9. **Te-Yu L, Kou-Ming Y, Jung-Chung L, et al.** Cryptococcal disease in patients with or without human immunodeficiency virus: clinical presentation and monitoring of serum cryptococcal antigen titers. *J Microbiol Immunol Infect* 2009; 42:220-226.
  10. **Manoni M, D'Arminio Monforte A, Milazzo L.** Infezioni dell'apparato respiratorio. In: Moroni M, Esposito R, De Lalla F. *Manuale di Malattie Infettive*. Ed. Masson Milano, 2003, cap 9: 408-409
  11. **Micol R, Lortholary O, Sar B, et al.** Prevalence, determinants of positivity and clinical utility of cryptococcal antigenemia in Cambodian HIV infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;45:555-559.
  12. **Salami AK, Ogunmodele JA, Fowotade A, et al.** Cryptococcal meningitis in a newly diagnosed AIDS patient: a case report. *West Afr J Med* 2009; 28 (5):343-346.
  13. **Sorrel CT, Chen SC-A.** Recent avances in management of cryptococcal meningitidis: commentary. *F1000 Med Rep*; 2010, 2:82.



# **Microbiology** and **Virology**

**Sul prossimo numero**



**Assessment of a light-scattering system in the culture screening of biological fluid samples**

*P. Lanzafame, M. Zoppelletto, M. Gaino, P. Ober*



**Una insolita polmonite**

*L. Collini, C. Pedrotti, D. Bassetti, F. Boccafoglio, D. Sella, P. Lanzafame*

