

7
2g.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

ESTUDIO RETROSPECTIVO DE CRIPTOCOCOSIS
DURANTE EL PERIODO 1990-1996 EN LA CD. DE
MEXICO Y REVISION DEL TEMA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A N :
ELSA MARIA BENITEZ ESTRADA
JUDITH MIRIAM ESPERILLA OLVERA

ASESOR: M.C. ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO.
Q.F.B. MA. EUGENIA POSADA GALARZA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1997

2007

TESIS CON
FALLA DE CALIFICACION



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



SECRETARÍA NACIONAL
DE EDUCACIÓN
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Estudio retrospectivo de criptococosis durante el periodo
de 1990- 1996 en la Cd. de México y revisión del tema".

que presenta la pasante: Elsa María Benítez Estrada.
con número de cuenta: 8302206-7 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.. a 8 de Septiembre de 1997

PRESIDENTE

Q.F.I. Andrea Becerril Osnaya *Andrea Becerril Osnaya*

VOCAL

M.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez. *Gerardo Cruz Jiménez*

SECRETARIO

M. en C. Alexandro Bonifaz Trujillo. *Alexandro Bonifaz Trujillo*

PRIMER SUPLENTE

M. en C. Andrés Romero Rojas. *Andrés Romero Rojas*

SEGUNDO SUPLENTE

Q.F.B. Beatriz Maya Nonroy *Beatriz Maya Nonroy*



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U Y A U
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN
DEPARTAMENTO DE EXAMENES
PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodriguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Estudio retrospectivo de criptococosis durante el periodo de 1990 - 1996 en la Cd. de México y revisión del tema".

que presenta la pasante: Judith Miriam Esperilla Olvera.
con número de cuenta: 8958839-0 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 9 de Septiembre de 1997.

PRESIDENTE	<u>Q.F.I. Andrea Becerril Osnaya.</u>	<i>Andrea Becerril Osnaya</i>
VOCAL	<u>M.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez.</u>	<i>Gerardo Cruz Jiménez</i>
SECRETARIO	<u>M. en C. Alexandro Bonifaz Trujillo</u>	<i>Alexandro Bonifaz Trujillo</i>
PRIMER SUPLENTE	<u>M. en C. Andrés Romero Rojas.</u>	<i>Andrés Romero Rojas</i>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. Beatriz Maya Monroy.</u>	<i>Beatriz Maya Monroy</i>

A mis padres:

*Ovidio A. Benítez Gutiérrez
Ana . Ma Estrada de Benítez*

A quienes les dedico todo el trabajo y satisfacciones que me pueda traer esta profesión, el legado más valioso que pudiera recibir, desgraciadamente Él ya no está con nosotros pero vivirá siempre en mi y sin duda lo sabe.

A todos mis hermanos pero muy en especial a Carlos, Daniel y José Luis por su apoyo y confianza

A mi gran amiga y compañera de tesis con quien he multiplicado las alegrías, dividido las penas y cuya honestidad es inviolable por esto y muchas cosas más Judith.

Sinceramente mil gracias.

Elsa

Con gran amor, respeto y admiración dedico este trabajo a mis padres:

Joel y Thelma

En testimonio de gratitud ilimitada, por su apoyo, aliento y estímulo, mismos que posibilitaron la conquista de esta meta; mi formación profesional, esperando que esta sólo sea una de tantas satisfacciones que pueda brindarles.

J. Miriam

A mis hermanos:

Joel, Daniel , Saúl, Carlos, Thelma, Norma, Alejandro, quienes han colmado mi vida de alegría, amor y sobre todo su apoyo incondicional, a quienes adoro.

Abuelo, Tios, Sobrinos, Primos:

Quienes en los momentos agradables compartieron conmigo alegrías y, en los difíciles me brindaron su apoyo incondicional, consejos y aliento. Como una meta a seguir.

A mis amigos:

Que con ningún interés me brindaron su apoyo y su ayuda en todo momento. Gracias Esme, Laurita, Mary, Saúl, Raúl, Juan Manuel, Sra Lety, Rene, Hugo, Memo, Victor, Miguel Angel , Gabriel, Lidia, Miriam, Cynthia.

Gracias

J. Miriam

Gracias a tí:

De quien no es necesario pronunciar tu nombre para quien no bastan las palabras para expresar mi agradecimiento por el cariño, comprensión, entrega, consejos y apoyo que supiste darme en el preciso momento en que más lo necesite y muy especialmente por tu amor pero sobretodo gracias por compartir conmigo uno de los muchos anhelos y satisfacciones que me puede brindar esta hermosa profesión

J. Miriam

A Juan Manuel:

Por tu apoyo que incondicionalmente me brindaste, gracias por la fuerza, entrega, soporte que me supiste brindar en los momentos difíciles, por encima vez mil gracias.

A Elsa:

Con respeto y admiración agradezco su colaboración y sobre todo su amistad, gracias por permitirme compartir contigo mi formación como profesionalista, y dejarme compartir risas y tristezas contigo. Gracias por ser como eres y principalmente por ser mi amiga. Recuerda que alcanzar un vuelo alto es muy caro, sin embargo, hay que luchar ansiosamente para lograrlo.

J. Miriam

AGRADECIMIENTOS

Al M.C. José Alejandro Bonifaz Trujillo

Para quien no bastan las palabras para expresarle nuestro agradecimiento por la oportunidad que nos brindó para desarrollar este tema, así como su confianza, paciencia, apoyo y valiosa ayuda.

Gracias a Ud ahora, a pesar del tiempo transcurrido nos ha sido posible culminar una de nuestras más grandes metas.

Mil gracias.

A la Q.F.B Ma Eugenia Pasada Galarza

A quien agradecemos infinitamente el apoyo, ayuda y confianza que nos brindó.

A los sinodales:

Por su tiempo y valiosas aportaciones para la culminación de este trabajo.

Un pequeño detalle a unas grandes personas:

I Q. Juan Manuel Arce Ortega

M.V.Z. Hugo B. Barrios García

Tec. Lab. Leticia Hernández.

Tec. Lab. Raúl Martínez Galván.

*A quienes le agradecemos de todo corazón toda su ayuda,
consejos y comprensión que nos brindaron y muy
especialmente por su amistad.*

Al Q.F.B. Héctor Coss por sus valiosos conocimientos y asesoría estadística.

*A la FESC por habernos dado la oportunidad de pertenecer a ella y penetrar en el
maravilloso mundo del saber.*

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
JUSTIFICACIÓN	4
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVOS PARTICULARES	5
I.- GENERALIDADES	6
DEFINICIÓN	6
II.- ANTECEDENTES HISTÓRICOS	7
III.- ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS	9
A) DISTRIBUCIÓN GEOGRÁTICA	9
B) HÁBITAT.....	10
C) FUENTE DE INFECCIÓN Y VÍA DE ENTRADA	12
D) RAZA, EDAD Y SEXO	13
E) OCUPACIÓN	13
F) FACTORES PREDISPONENTES.....	14
IV.- ETIOLOGÍA	15
V.- CICLO DE VIDA	22
UTILIZACIÓN DEL ÁCIDO L-MÁLICO	25
UTILIZACION DE CREATININA	25
UTILIZACIÓN DE GLICINA	26

VI.- PATOGENIA	27
VII.- ASPECTOS CLÍNICOS	29
CRUPTOCOCOSIS PULMONAR	29
CRUPTOCOCOSIS DEL SNC	32
CRUPTOCOCOSIS CUTÁNEA Y MUCOCUTÁNEA	36
CRUPTOCOCOSIS ÓSEA	38
CRUPTOCOCOSIS DISEMINADA	39
OTRAS FORMAS CLÍNICAS DE CRUPTOCOCOSIS	41
VIII.- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	42
DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO	43
A) PRUEBAS MICOLÓGICAS	44
EXAMEN DIRECTO	44
CULTIVO	45
IDENTIFICACION BIOQUÍMICA	46
PRUEBA DE ÚREA	47
PRUEBA DE ASIMILACIÓN DE CARBOHIDRATOS	48
PRUEBA DE REDUCCIÓN DE NITRATOS	49
PRUEBA DE PATOGENICIDAD EN RATÓN	49
MEDIO DE CREATININA-DEXTRONA-AZÚL DE BROMOTIMOL (CDB)	50
MEDIO DE CANAVANINA-GLICINA-AZÚL DE BROMOTIMOL (CGB)	50
PRUEBA DE ASIMILACIÓN DE D-PROLINA	51
PRUEBA DE INHIBICIÓN DE UREASA MEDIANTE EL EDTA	51

B) ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO	51
<i>TINCIÓN DE HEMATOXILINA - EOSINA</i>	<i>52</i>
<i>TINCIÓN DE GIEMSA</i>	<i>52</i>
<i>TINCIÓN ÁCIDO PERIÓDICO DE SCHIFF (PAS)</i>	<i>53</i>
<i>TINCIÓN DE MUCICARMINA DE MAYER</i>	<i>53</i>
<i>TINCIÓN DE METENAMINA DE PLATA (GOMORI-GROCOTT)</i>	<i>53</i>
<i>TINCIÓN DE PLATA DE MASSON-FONTANA -MELANINA ...</i>	<i>53</i>
C) ESTUDIO SEROLÓGICO	54
IX.- TRATAMIENTO.....	57
X.- METODOLOGÍA.....	62
XI.- RESULTADOS	64
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	64
XII.- DISCUSIÓN ..	74
XIII.- CONCLUSIONES.....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1

Corte esquemático de la estructura de una levadura 15

FIGURA 2

Células de C. neoformans en gemación observadas a través de microscopio electrónico16

FIGURA 3

Ciclo de vida de C. neoformans 22

FIGURA 3.1

Conexiones de Clam de C. neoformans23

FIGURA 3.2

Hifa Dicariotípica de C. neoformans23

FIGURA 3.3

Formación de basidiosporas debido a la gemación del basidopétalo23

FIGURA 3.4

Cadenas de basidiosporas observadas en un cultivo de agar23

FIGURA 4

Esquema de la historia natural del ciclo saprofítico y parasitario de C. neoformans, así como la diseminación de la criptococosis en el ser humano 28

FIGURA 5

Porcentaje de Criptococosis relacionadas al sexo y otro tipo de inmunosupresión durante 1990/1996 69

FIGURA 6

Porcentaje de casos de Criptococosis relacionados al sexo masculino 70

FIGURA 7

Porcentaje de casos de Criptococosis relacionados al sexo femenino..... 71

FIGURA 8

Criptococosis en diferentes instituciones de la Cd. de México durante el periodo 1990/1996. 72

FIGURA 9

Porcentaje total de casos de criptococosis en cada institución durante 1990/1996 73

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1

<i>Características de las Especies de Cryptococcus encontradas con mayor frecuencia en las muestras clínicas</i>	47
--	----

TABLA N° 2

<i>Resultados globales del estudio retrospectivo de Criptococosis en la Ciudad de México</i>	68
--	----

RESUMEN

En el presente estudio se determinó la incidencia de criptococosis durante el periodo 1990-1996 en la Ciudad de México llevado a cabo en diferentes Instituciones de Salud Pública.

Los datos recopilados están basados principalmente en pacientes diagnosticados con criptococosis confirmada o bien, en aquellos que presentaban síntomas relacionados a este padecimiento. Para la realización del estudio fue necesario tomar en cuenta ciertos parámetros como son: la fecha de ingreso del paciente, número de expediente, sexo, edad, lugar de procedencia, tipo de criptococosis, muestra analizada y de mayor relevancia el diagnóstico del laboratorio.

Como resultado positivo de la investigación fue posible captar 265 casos de criptococosis, de los cuales, la institución con mayor incidencia lo ha demostrado ser el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional "La Raza", esto es 53.2% de casos, seguido por el Hospital General de México con el 27.5%, y por último las instituciones con el índice menor de pacientes han sido el Hospital Juárez de México y el Hospital Regional Ignacio Zaragoza con 36 y 18 casos respectivamente. Por otro lado, algunos hospitales también materia de estudio, no reportan pacientes con este tipo de micosis, tal es el caso del Hospital Regional 1º de Octubre y el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre.

INTRODUCCIÓN

La criptococosis es una micosis ocasionada por un hongo denominado *Cryptococcus neoformans*, el cual es una levadura capsulada, oportunista que causa serios problemas en humanos y animales. Esta levadura penetra al organismo preferentemente por vía aérea, pero ocasionalmente la criptococosis se presenta en forma pulmonar en casos sistémicos y meníngeos debido a que tiene predilección por el sistema nervioso central (SNC). Durante mucho tiempo se consideró un padecimiento raro, sin embargo, en la actualidad su frecuencia es mayor, ya que se presentan casos de criptococosis asociada con enfermedades debilitantes como leucemias, diabetes mellitus, linfomas, pacientes tratados con esteroides y en aquellos que presenten el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) (25,30).

En la literatura se reporta la asociación de criptococosis como un marcador de SIDA y debido al aumento de esta micosis sobretodo en pacientes inmunosuprimidos en este país y a la falta de pruebas serológicas específicas se planteó la necesidad de realizar una búsqueda bibliográfica para la actualización del tema, con la finalidad de contribuir con nuevas alternativas para el diagnóstico de la criptococosis.

En el lapso de este estudio se determinó la prevalencia de la criptococosis asociada al síndrome de inmunodeficiencia adquirida en diferentes instituciones de salud pública tales como: Hospital Regional de Infectología del Centro Médico Nacional "La Raza", Hospital General de México, Hospital Juárez de México, Hospital Regional Ignacio Zaragoza, Hospital 1º de Octubre y Centro Médico Nacional 20 de Noviembre.

JUSTIFICACIÓN

La criptococosis es la micosis oportunistas que se ha incrementado más en la última década, hace más de diez años, por lo regular asociados a leucemias, linfomas en pacientes transplantados o bajo corticoterapias, sin embargo, con la aparición e incremento del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), cada vez se reportan más casos de esta micosis de la cual, el tipo clínico más común es la meníngea. Además de ser uno de los padecimientos más observados a nivel del sistema nervioso central (SNC) en pacientes con SIDA.

La mayoría de las formas clínicas de criptococosis pasan por un periodo asintomático, particularmente la meníngea, por lo que en la mayoría de las veces es detectado cuando el padecimiento ya ha avanzado y por lo regular con un mal diagnóstico, por lo tanto en pacientes relacionados a esta micosis deben ser sometidos a pruebas de rutina para detectar la presencia del agente causal.

El objetivo de la presente investigación es hacer una revisión bibliográfica para la actualización del tema a fin de contribuir con nuevas alternativas para el diagnóstico de la criptococosis. Así como proporcionar datos de importancia epidemiológica para México, ya que *C. neoformans* se ha convertido en una de las micosis oportunista más prevalentes.

OBJETIVO GENERAL

Determinar la incidencia de criptococosis durante el periodo 1990-1996 en la Ciudad de México, mediante un estudio retrospectivo realizado en diferentes instituciones de salud pública (Hospital General de México, Hospital Regional de Infectología del Centro Médico Nacional “la Raza”, Hospital Juárez de México, Hospital Regional Ignacio Zaragoza, Hospital Regional 1° de Octubre y Centro Médico Nacional 20 de Noviembre).

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la prevalencia de la criptococosis asociada con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), en hospitales de mayor concentración de pacientes en la Cd. de México.
2. Buscar bibliografía para la actualización del tema a fin de contribuir con nuevas alternativas para el diagnóstico de la criptococosis.

I.- GENERALIDADES

Definición

Es una micosis causada por un hongo levaduriforme capsulado oportunista denominado *Cryptococcus neoformans*; se adquiere por vía respiratoria y pulmonar en un 90%, afectando también cualquier víscera, músculo, hueso, piel ó mucosas, mostrando particular afinidad por el sistema nervios central. La evolución de la infección es aguda, subaguda o crónica pulmonar, sistémica generalizada o meníngea.(1) la criptococosis se observa tanto en los animales como en el humano (2). Las sinónimias para esta infección son conocidas como "Blastomicosis Europea" (enfermedad de Busse-Buschke, Torulosis), y actualmente conocida como Filobasidiellosis (3,4,5).

II.- ANTECEDENTES HISTÓRICOS

- 1885 Buschke y Sanfelice en Italia aislaron una levadura capsulada del jugo de durazno la cual experimentalmente causó lesiones en animales, denominándola *Saccharomyces neoformans* (7,26).
- 1894 Busse reportó el aislamiento de una levadura capsulada de la tibia de una mujer a la cual denominó *Saccharomycosis hominis* (1, 7).
- 1896 Curtis aisló la levadura en un tumor mixomatoso el cual denominó *Saccharomyces subcutaneous tumefaciens* (7).
- 1901 Vuillemin estudio la morfología y características de la levadura capsulada y la denomina por primera vez como *Cryptococcus hominis* (7, 26).
- 1905 Von Hansemann fue el primero en observar este hongo en un caso de meningitis, describiendo la enfermedad como "tuberculosa" (7).
- 1916 Baker y Haugen tras un estudio detallado de la levadura desacreditaron el término de *Torula histolytica*, y definieron los dos tipos de lesiones que produce esta levadura, gelatinosas y granulomatosas (7).
- 1935 Benham logra diferenciar a la criptococosis de las blastomicosis (7).

-
- 1949 Evans encontró diferencias serológicas, mediante las cuales identificó los tres primeros serotipos A, B, y C, aislados de muestras clínicas (6, 7).
- 1950 Benhem propuso que el nombre de torulosis se remplazara por el criptococosis y designó al agente etiológico como *Cryptococcus neoformans* (7).
- 1951 Emmons aisló al *Cryptococcus neoformans* del suelo y excretas de paloma.
- 1954 Zimmerman y Rappaport observaron la frecuencia de la criptococosis en pacientes con desórdenes en el sistema inmune (6,1,7).
- 1955 Baker y Haugen demuestran la presencia de la cápsula de la levadura (6, 7).
- 1956 Seeliger introdujo la prueba de ureasa para la identificación de *Cryptococcus* (6, 7)
- 1962 Staid Formuló un medio para el aislamiento e identificación de *C. neoformans* (6, 7).
- 1969 Vogel identificó el cuarto serotipo de *C. neoformans* designado como D (5).
- 1976 Kwon-Chung reporta dos estados perfectos de *Cryptococcus neoformans*, siendo el primero la fase telemórfica correspondiendo a un basidiomiceto denominado *Filobasidiella neoformans var neoformans* y *Filobasidiella neoformans var bacillospora*
- 1990 Ellis y Pfeiffer aislaron por primera vez a *C. neoformans var gattii*, de los árboles de *Eucalyptus camaldulensis* y *Eucalyptus tereticornis* (9,10).

III.- ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

A) Distribución geográfica

La criptococosis es una infección la cual posee una distribución mundial, pero su prevalencia real se desconoce, debido a la ausencia de pruebas cutáneas fiables y de otras pruebas serológicas que ayuden a dilucidar su distribución. Sin embargo, estudios epidemiológicos han revelado que los serotipos, comúnmente aislados en casos clínicos son los correspondientes a la *variedad neoformans*, dado que se reportan de entre un 50 a 94%, siendo su distribución para éstos: serotipo A (mundial) y serotipo D (Europa) (11,12,6).

La distribución geográfica para *Cryptococcus neoformans var gattu* (serotipo B y C), se encuentra restringida a zonas cuyo clima sea subtropical a tropical (6,9,13).

El reporte de casos relacionados con SIDA, fluctúan entre un 10-15 % en nuestro país, aunque estas cifras pueden variar. No obstante esta infección en los E.U. ocurre alrededor del 7 al 8 % en pacientes con SIDA, y más del 50 % del total de casos de criptococosis reportados anualmente en los E.U. provienen de pacientes con SIDA (16,18). Otros estudios reportados en distintos países revelan que la frecuencia de esta infección es menor como es el caso en el Occidente de Europa, Reino Unido, Francia, Bélgica, Alemania y Países Bajos siendo los siguientes porcentajes: 3.2%, 5.8%, 5.4%, 5%, 6.1% respectivamente (17,18,19)

Estudios epidemiológicos realizados antes de la presencia de la epidemia del SIDA, indican que la infección causada por *Cryptococcus neoformans var neoformans*, se encontraba distribuida

mundialmente, mientras que la infección causada por *Cryptococcus neoformans var gattii*, se restringe solamente a regiones tropicales y subtropicales. Sin embargo, tras la presencia de este síndrome se ha observado que el porcentaje de la criptococosis producida por la *variedad gattii* ha disminuido notablemente, no importando las zonas geográficas. Esto es debido a que en pacientes con SIDA se les ha aislado con mayor frecuencia la *variedad neoformans* (20).

En la literatura, pocos han sido los casos reportados de SIDA asociados a criptococosis causada por la *variedad gattii*, los cuales fueron reportados en Francia (21), California (22, 23), Australia y México considerados estos países como regiones endémicas para la *variedad gattii* (5).

La relación de esta infección en cuanto al sexo es de 2:1, siendo mayor en el sexo masculino, misma que ha permanecido igual antes y después de la aparición del SIDA en Africa tropical y esto es porque el SIDA se presenta en ambos sexos (7).

B) Hábitat

Anteriormente, se había reportado el aislamiento de la levadura en jugo de frutas y leche, no obstante el hábitat natural de éste no había sido establecido por completo, hasta los trabajos realizados por Emmons en los que se establecía la asociación saprófita del hongo con los nidos de paloma y excretas de éstas, siendo este hecho confirmado en diversas partes del mundo. La presencia del hongo es más evidente en la excretas viejas de paloma que han sido acumuladas por varios años en sitios como gallineros, campanarios, cúpulas, pisos altos de construcciones viejas, bordes de ventanas en ciudades, establos y en el heno sólo ha sido aislando *Cryptococcus neoformans var neoformans* (6,7,25).

Al parecer la paloma (*Columbia Livia*), es el vector principal de la distribución y conservación del *Cryptococcus neoformans var neoformans*, sin embargo, es incapaz de enfermar a ésta, cuya temperatura corporal promedio es de 42° C; no obstante, sobrevive cuando pasa a través del intestino. La levadura sobrevive, pero no se desarrollan a 44° C. En la excreta de paloma desecada o húmeda ésta persiste viable durante varios meses hasta dos años o más en sitios protegidos que no estén en contacto directo con el suelo, encontrándose una mayor cantidad en excretas desecadas, ya que las células son altamente resistentes a la desecación, reportándose su viabilidad en muestras de guano muy viejas al ser diluidas en solución salina fisiológica (SSF), y posteriormente sembradas en sabouraud, obteniéndose 5×10^7 células, viables de *C. neoformans* provenientes de 1 gr. de guano, sin embargo, en guano fresco o húmedo es poco frecuente que la contenga posiblemente por que en un ambiente bajo estas condiciones, la levadura se encuentre compartiendo el sustrato alcalino, rico en nitrógeno con otros microorganismos tales como *Geotrichum candidum*, así como diferentes especies de *Candida* y *Rhodotorula*. *Cryptococcus* desaparece de los desechos infectados cuando están en contacto con el suelo, probablemente se deba a que hayan sido digeridos por amibas (6, 7, 26)

En 1984, estudios realizados por Kwon-Chung revelaron que la variedad *gattii* prevaleció en climas restringidos a zonas tropicales y subtropicales presentándose una alta prevalencia de esta variedad en el Sureste de Asia, Zaire, Australia, Brasil, Venezuela, Sureste de California, Camboya, Thailandia, Vietnam y México. Anteriormente esta variedad se había aislado únicamente de casos clínicos, sin embargo la inquietud de los investigadores para determinar el hábitat natural para esta variedad hace a que estos fijen su atención al estudio de la vegetación de este tipo de climas (6,13,22). Estudios recientemente realizados por Ellis y Pfeiffer revelaron la presencia de *C. neoformans var gattii* en el medio ambiente asociado ecológicamente con los árboles de eucalipto (6,9.).

Cryptococcus neoformans var gattii fue aislado del *Eucalyptus camaldulensis* de su madera, corteza, hojas y desechos acumulados debajo de estos, así como de los restos de la vegetación de estos sitios, de los cuales no se aisló. Con lo que se marca la asociación específica y ecológica entre *Cryptococcus neoformans var gattii* y *Eucalyptus camaldulensis* (27,28). En 1992 estos mismos investigadores, establecieron una nueva asociación entre *Cryptococcus neoformans var gattii* y *Eucalyptus tereticornis*. La presencia de la levadura en la asociación con éste, la cual está estrictamente relacionada con la etapa de floración de los eucaliptos, motivo por el cual se cree que la propagación en el aire por este hongo se presenta por periodos cortos (7, 10, 27).

C) Fuente de infección y vía de entrada

De las diferentes especies del género *Cryptococcus*, únicamente *C. neoformans* se considera como oportunista-patógena. La criptocosis se observa tanto en el humano como en los animales, se produce generalmente la enfermedad como consecuencia de la inhalación de la levadura con polvo contaminado con el microorganismo (4, 6, 7, 8). Recientemente, se sugiere como fuente de infección la inhalación de basidiosporas del estado perfecto de *C. neoformans*, sin embargo han sido reportados casos cutáneos primarios iniciándose estos por el contacto directo de la levadura de *Cryptococcus neoformans*, también se ha sugerido el ingreso de la levadura vía oral, mediante el consumo de frutos y leche contaminados, pero dicha levadura queda inactivada la mayoría de las veces por la acción de la lisozima salival y el pH estomacal. En el hombre la infección es considerada como subaguda o aguda pulmonar, sistémica y meníngea debido a que los focos primarios en el aparato respiratorio son frecuentemente el origen de diseminaciones generalizadas que pueden afectar al SNC, ya que el microorganismo muestra una marcada predilección por este sistema, además de las estructuras óseas,

piel y otros órganos. Hasta la fecha no ha sido comprobada la transmisión de persona a persona (25, 29).

D) Raza, edad y sexo

La infección no tiene predilección por el sexo observándose un ligero predominio en el hombre; quizá por la mayor exposición al microorganismo por motivos ocupacionales o vacacionales, sin embargo, investigaciones realizadas por Levitz (24) indican que los estrógenos tienen una actividad *in vitro* contra *C. neoformans* la cual puede ser un factor de protección en la mujer. En cuanto a la raza y edad no ofrece una predilección especial, aunque la mayoría de los pacientes son adultos cuya edad oscila entre 30-60 años, y rara vez se presenta en los niños (1, 25).

E) Ocupación

En trabajadores de establos, gallineros, palomares que están más expuestos a *C. neoformans* se han presentado títulos altos de anticuerpos específicos contra este microorganismo, no necesariamente desarrollando la enfermedad, a no ser que se presenten severas inmunodepresiones o factores predisponentes definidos (26).

F) Factores Predisponentes

Entre los factores que predisponen a la infección por *Cryptococcus* se encuentran los siguientes:

- *Inmunodeficiencia primaria o adquirida*
 - * SIDA
 - * Leucemias y linfomas
 - * Corticoterapias y tratamientos con citotóxicos
 - * Neoplasias y sarcoides

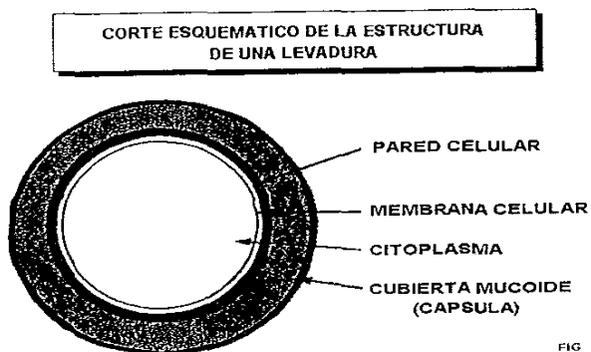
- *Inmunodeficiencia secundaria*
 - * Metabólicas
 - * Diabetes mellitus

- *Miscelaneas*
 - * No tendencias a factores predisponentes
 - * Factores predisponentes genéticos

IV.- ETIOLOGÍA

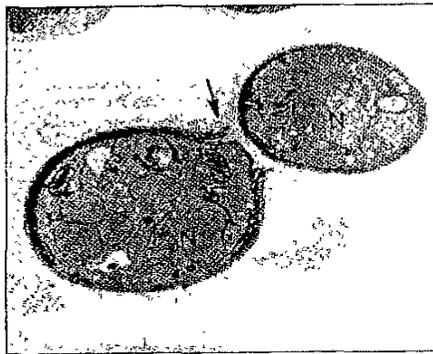
El agente etiológico predominante es *Cryptococcus neoformans* (99%); y en muy raras ocasiones es producido por especies menos patógenas como *C. uniguttulatus* y *C. albidus* (106, 53).

Cryptococcus neoformans; es un hongo bifásico, al microscopio se observa como hongo levaduriforme, capsulado que llega a medir de 15 a 20 μm . de diámetro la cápsula en ocasiones puede ser hasta 3 veces el tamaño de la levadura como se muestra en la fig. 1. El tamaño de esta depende de las condiciones de crecimiento así como de concentraciones adecuadas de óxido de carbón y hierro. En los medios de cultivo muy viejos; la cápsula puede reducirse e inclusive hasta desaparecer. Una forma de evitar este fenómeno es resemebrando la levadura en LCR estéril o inocular en un ratón lactante intratecalmente (4, 6, 8, 33).



El género *Cryptococcus* se caracteriza por presentar una morfología redonda o elongada Fig. 2. Entre otras características de *Cryptococcus neoformans* se encuentra; reproducción por gemación, y raras

veces formaciones de elementos miceliales (pseudomicelio), clamidionidias, en suero no produce tubo germinativo, desarrolla en medios de cultivo habituales como son: agar dextrosa sabouraud (SDA), agar infusión cerebro corazón (BHI) y extracto de levadura desarrollando colonias mucoides convexas, brillantes de color blanco amarillento obscuro hasta pardo (7,12,34). El primo aislamiento de *Cryptococcus*, es realizado en el medio de Staib y Senska ó medio de Niger, generando colonias con un pigmento café obscuro (35).



Células de *C. neoformans* en gemación observadas utilizando microscopio electrónico
Tomado de Kwon-Chung (6)

FIG. 2

La temperatura óptima para su desarrollo es de 27 - 37°C, la no asimilación de nitratos, producción de ureasa y asimilación de carbohidratos como se demuestra en la tabla 1 (35). El crecimiento de *Cryptococcus neoformans*, es inhibido en medios los cuales contengan ciclohexamida en diferentes concentraciones de ésta (200-500 mg/ml), también es posible diferenciar los serotipos de *C. neoformans*; en donde los serotipos B y C son más resistentes a bajas concentraciones del antibiótico (<20mg/ml) a diferencia de A y D (36, 37).

Para *Cryptococcus neoformans* se ha reportado dos variedades con sus correspondientes serotipos siendo estas: *Cryptococcus neoformans var neoformans* (serotipos A y D), y *Cryptococcus neoformans var gattii* (serotipos B y C) (3).

La patogenicidad de *C. neoformans* es atribuida al polisacárido capsular inhibiendo de esta forma la fagocitosis de la levadura por los macrófagos (29).

Son reconocidos dos mecanismos para explicar la inhibición de la fagocitosis por el polisacárido, según los estudios realizados por Gadebuscii:

1. El material capsular puede, por su propia presencia física alrededor de la levadura, proveer una interacción efectiva *Cryptococcus* y la célula fagocítica, o bien el material capsular puede agotar componentes séricos necesarios para la fagocitosis.
2. El polisacárido criptococico ha demostrado inactivar a la properdina, y consume los últimos componentes del complemento, cuando se encuentra dicho polisacárido en altas concentraciones (29).

Por otro lado se ha tratado de explicar cuales son los efectos que pueden producir el polisacárido de *C. neoformans* en las defensas celulares (neutrófilos, monocitos, macrófagos de tejido y células natural Killer) (100,111,112).

Los macrófagos, juegan un papel crítico en la inmunoinducción, incluyendo el catabolismo y presentación de antígeno para que respondan los linfocitos. El papel auxiliar de los macrófagos incluye la habilidad para desencadenar una serie de moléculas reguladoras, que pueden modificar la

proliferación de linfocitos T. Esta ha sido observada, cuando el producto de una estimulación de los linfocitos puede regular la actividad tumoricida que tienen los macrófagos. Esto ha sido evidente en pruebas de laboratorio con ratones inoculados con *C. neoformans*, obteniendo una disminución en la respuesta inmune. Durante el desarrollo de la enfermedad, el ratón infectado con *C. neoformans* presenta depresión en la respuesta inmunohumoral y depresión en la respuesta de células mediadoras de la inmunidad (mitógenas), para los antígenos específicos y para los linfocitos T dependientes de antígeno (38,113,114).

Se han realizado estudios usando cultivos y macrófagos pulmonares humanos, en donde se investigó la puerta de entrada de *C. neoformans*, en los cuales se concluyó:

- Los macrófagos pulmonares engloban a las células no capsuladas de *C. neoformans*.
- El proceso fagocítico fue inhibido por material capsular criptocócico.
- Los macrófagos alveolares engloban a *C. neoformans* pero no lo destruyen.
- Los macrófagos alveolares no contienen a la mieloperoxidasa.

Estos resultados hicieron dudar acerca de la efectividad de los macrófagos alveolares como primera barrera celular de defensa considerando más importantes, una segunda barrera que dispone de ellos vía capa mucociliar en el tracto gastrointestinal o bien que estos microorganismos permanezcan en el pulmón, induciendo un estado de éxtasis. Si esto es posible las células de *C. neoformans* puedan encontrarse en estado latente en muchos individuos aparentemente sanos y más adelante durante una deficiencia inmunológica, estas células pueden activarse, multiplicarse y diseminarse, resultando un estado de enfermedad (115).

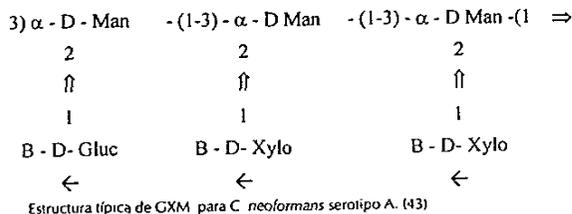
In vitro, las células intactas de *C. neoformans* estimulan la proliferación y producción de interleucina por los linfocitos T provenientes de pacientes e incluso de personas sanas inoculadas previamente con antígenos de *Cryptococcus*; esto es seguido por un aumento temprano de células T₈ (111). En la criptococosis experimental las monoproteínas antigénicas del criptococo inducen y se absorben específicamente la población de células T supresoras de primer orden Lyt-1 IJ⁺, estas células no sólo inhiben los linfocitos L3T4⁺ Lyt-2, responsables de la inhibición de la hipersensibilidad retardada, sino que también células supresoras de segundo orden que a su vez inducen a células de tercer orden Thy-1⁺ IJ⁺, capaces de suprimir las respuestas eferentes (117,118,119), además se producen linfocinas supresoras de macrófagos que podría contribuir a la depresión de la quimiotaxis y a la alergia cutánea que se observa en pacientes con criptococosis.

Dichos efectos se deben a la composición química del polisacárido capsular, la cual está formada de manosa, xilosa, ácido glucurónico, O-acetilos y carbohidratos (aminas), galactoxilomananas, monoproteínas, encontrándose en relación 3:2:1 respectivamente y 2% de grupos O-acetil, los cuales forman un complejo alfa-glucuroxilomanana unidos a moléculas de manosa (39,40,41).

Estudios realizados por Bhattacharjee (41), demostraron que el complejo glucuroxilomanana (GXM); es un polisacárido viscoso y es el responsable directo de la diferenciación en los serotipos, el cual contiene cadenas laterales las cuales poseen ácido glucurónico y grupos O-acetil. Así como el grado de O-acetilación de grupos de hidroxilo. El complejo GXM constituye el 88% de la masa capsular compuesto de enlaces -1-3 α -D-manosa sustituido por enlaces sencillos 1-2-D-xilosil y -1-2-D ácido glucurónico.

La Galactoxilomanana (GalXM), las monoproteínas (MP) se encuentran en una cantidad de 12% en la masa capsular, la GalXM está constituido por glucosa, xilosa, ácido glucurónico en una proporción 1.9:1.8:1:0.2 y 2% de O-acetilos, cada uno de estos determinantes confieren propiedades fisicoquímicas distintivas para la superficie capsular. Existe una variación natural entre los serotipos de *Cryptococcus* en la cantidad de sustituyentes O-acetilo y xilosilo. La O-acetilación varía de 10.3% en el serotipo D y 3% en el serotipo C. Sin embargo, la sustitución de xilosilo varía en una proporción xilosa manosa de 1:3 en el serotipo C (5,6,42).

La relación molecular de xilosa-manosa-Ac glucurónico es 2:3:1 para el serotipo A, el cual es mostrado en la siguiente esquema.



Existen otros mecanismos de patogenicidad atribuidos a *Cryptococcus neoformans* entre los cuales se encuentra la producción de ureasa que induce a la liberación de amoníaco. Otra característica de este microorganismo es el hecho de no poder utilizar proteínas séricas del humano; además de liberar proteasas que activa la degradación del fibrinógeno humano realizado *in vitro*, esto indica que si la actividad de las proteasas ocurre *in vivo* se puede explicar la carencia de fibrosis e hialinización alrededor de las lesiones criptococales (44).

En estos últimos años Kwon-Chung (6) demostró la producción de basidiosporas y conexiones de pinzas o "Clamp" en la hifa fertilizada para el estado perfecto de la levadura. Para *Cryptococcus neoformans* se reportaron dos estados perfectos, siendo el primero la fase telemórfica correspondiendo a un basidiomiceto denominado *Filobasidiella neoformans* y *Filobasidiella neoformans var bacillospora* la cual corresponde al telemorfismo de *Cryptococcus neoformans var gattii*.

El telemorfismo es el estado sexual del hongo el cual en este caso se caracteriza por la producción de basidiosporas (propagación sexual). La reproducción asexual en *C. neoformans* es el estado anamórfico, el cual se caracteriza por la gemación de células idénticas (propagación asexual) que típicamente se desarrolla en un polisacárido capsular ancho (27,36).

En la actualidad la clasificación taxonómica de *Cryptococcus neoformans* tanto en su fase sexual como asexual es la siguiente: (26)

	FASE ASEJUAL	FASE SEXUAL
CLASE	Deuteromyces	Basidiomycetes
SUBCLASE	Blastomycetidae	Teliomycetidae
ORDEN	Cryptococcales	Ustilaginales
FAMILIA	Cryptococcaceae	Ustilaginaceae
GENERO	Cryptococcus	Filobasidiella / Filobasidium
ESPECIE	neoformans	neoformans
VARIEDAD	neoformans o gattii	neoformans o gattii

Tomado de A. Bonifaz (26)

V.- CICLO DE VIDA

En la fig. 3 se ilustra el ciclo de vida de *C. neoformans*, la mayor parte de los aislamientos del medio ambiente y de los casos clínicos son haploides y heterotalicos, pero pocas cepas son fertilizadas por si mismas, produciendo basidiosporas sin un apareamiento aparente, estos aislamientos pueden ser diploides o aneuploides.

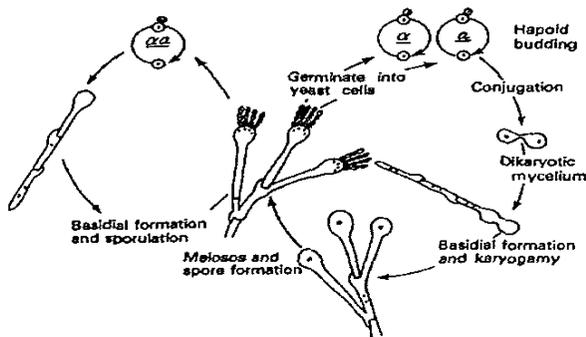


FIG. 3

Tomado Kwon Chung (6)

El tipo de apareamiento de los aislamientos haploides pueden ser α ó β (uno u otro). Cuando dos tipos de células con un tipo de reproducción diferente son colocados en una placa de agar grueso de jugo de V-8 ó agar infusión cerebro corazón (BHI) a una temperatura de 25 - 37°C. Las células levaduriformes de ambos tipos conjugados producen una hifa dicariotípica, con un septo dolíparo y conexiones de clamp como se observa en la fig. 3.1 y 3.2, posteriormente se produce una hifa redonda subterminal o masa basal en la cual la cariogamia y meiosis ocurre en la punta del basidio; la basidiospora mide aproximadamente 1.8 a 3 X 2 a 5 μm . y más comúnmente de 1.8 X 2 μm ., las cuales son uninucleares, ovaladas, elípticas, cilíndricas y piriformes a redonda, estas son producidas por la gemación de los basidiópétalos directamente en 4 sitios sobre la punta basidial, este proceso puede ser observado de 1 - 2 semanas.

Estudios citológicos y genéticos indican que los 4 núcleos restantes de la primera meiosis en el basidio se divide cada uno mitóticamente. Durante la migración del núcleo se divide repetidamente en el basidiopétalo por gemación hasta formar una cadena de 20 o más basidiosporas uninucleadas (fig. 3.3 y 3.4)

Las esporas de una sola cadena no son genéticamente idénticas porque el núcleo es casualmente incluido en las esporas durante la formación de las cadenas (6).

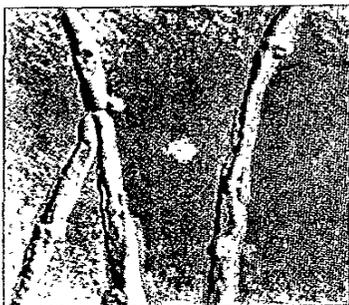


Fig. 3.1 Conexiones de Clam de *C. neoformans*.
Tomado Kwon Chung (6)

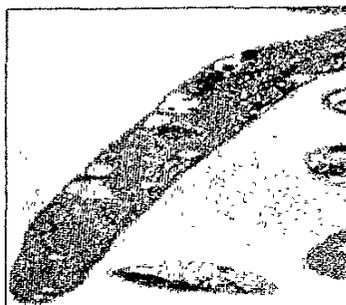


Fig. 3.2 Hifa Dicarotípica de *C. neoformans*.
Tomado Kwon Chung (6)



Fig 3.3 Formación de basidiosporas debido a la gemación del basidiopétalo.
Tomado Kwon Chung (6)



Fig. 3.4 Cadenas de basidiosporas observadas en un cultivo de agar.
Tomado Kwon Chung (6)

El ciclo de vida de *C. neoformans var gattii* es el mismo que el de *C. neoformans var neoformans* excepto que la hifa hausteroide no se observa en la variedad *gattii*. Las basidiosporas son bacilarmente lisas midiendo (1 a 1.8 X 3 a 8 μm). Al estado filobasidiella puede producirse con el uso del jugo V-8 con 4% de agar e incubar a 25°C. la habilidad para producir el telemorfismo, fácilmente se puede perder si se mantiene en un medio de agar.

El grado de mucosidad está relacionado directamente con la cantidad de la cápsula formada por célula, ésta es favorecida cuando las cepas son crecidas en medios ricos en glucosa y una atmósfera alta en CO₂, bajo estas condiciones las cepas crecen en un lapso de siete días (una semana), desarrollando un alto grado de mucosidad, en la cual se observa un ligero desplazamiento de éstas hacia el fondo de las placas de agar. A diferencia de otras las cuales carecen de un alto grado de mucosidad, que al ser crecidas sobre placas de agar, las colonias generadas en estas poseen una apariencia seca (6).

El grado de mucosidad de las cepas puede afectar al tamaño de la cápsula ya que en preparaciones con tinta china de cepas con un alto grado de mucosidad poseen una cápsula grande, no siendo así para las colonias con un grado menor, por lo anterior se puede decir que el grado de mucosidad mantiene una relación directamente proporcional con el tamaño de la cápsula (6).

En infecciones producidas experimentalmente puede demostrarse al ser inoculadas células intratecalmente en ratones favoreciendo de esta manera el tamaño de la cápsula (más densa) (6)

C. neoformans var gattii produce colonias blancas-cremosas y altamente mucoides. Los aislamientos de esta variedad tienden a ser células en forma ovalada ó en forma de limón, miden de 3 a 5 X 3 a 7 μm ., a 25°C se generan colonias redondas, mientras que a 37°C generan colonias alargadas, cuando

crecen en agar de malta. Muchas cepas de esta variedad crecen más lentamente que las de la *variedad neoformans*. La temperatura óptima de crecimiento es a 32°C en comparación con la *variedad neoformans*. En infecciones producidas experimentalmente en ratones vía intratecal, las células se observan con una forma elíptica, ovalada ó redondas con una cápsula gruesa (6).

Además de las diferencias ecológicas, epidemiológicas, serológicas y morfológicas, también existen diferencias fisiológicas y bioquímicas entre las dos variedades en las cuales se destacan las siguientes:

Utilización del ácido L-málico

El ácido L-málico actúa como única fuente de carbono, es utilizado 10 veces más por *variedad gattii* que en la *variedad neoformans*. Este hecho es demostrado al crecer cepas en ácido L-málico, y al ser realizado un auxonograma de la *variedad gattii* se observa claramente zonas de crecimiento visibles en 48 hrs., mientras que las cepas de la *variedad neoformans* requieren de un lapso mayor (5 días) para su crecimiento; en ocasiones el crecimiento que se obtiene es igual después de los 5 días. No obstante esta distinción no es muy clara sin un sistema de pruebas en las cuales se incluye cromatografía del ácido l-málico ó cultivado en caldo con un prolongado periodo de incubación (6).

Utilización de creatinina

Las cepas de *variedad gattii* utilizan a la creatinina como única fuente de carbono mejor que la *variedad neoformans*, la enzima que induce o estimula la diaminización de la creatinina en metilhidantoina y amonio, es la diaminasa, esto es demostrado cuando cepas del serotipo D de la *variedad neoformans* sólo producen diaminización de creatinina con la conversión de la creatinina a

metilhidantoina y amonio. No obstante, cantidades pequeñas de amonio deprimen la síntesis de la diseminación de creatinina, es decir deprimen la acción de la enzima diaminasa, sin embargo muchas cepas del serotipo A no utilizan a la creatinina muy bien, posiblemente porque existe un deterioramiento en este sistema ó en la conversión de: creatinina a metilhidantoina y amoniaco (6, 36, 45, 46)

Utilización de glicina

Otra diferencia entre las dos variedades involucra la habilidad para utilizar la glicina como única fuente de carbono y nitrógeno. Se ha observado que cepas obtenidas de aislamientos de la *variedad gattii* asimilan glicina como única fuente de carbono, mientras que sólo una minoría de las cepas aisladas de la *variedad neoformans* asimilan el aminoácido (45)

VI.- PATOGENIA

En la criptocosis, el modelo común de infección es por vía inhalatoria, en donde los microorganismos en aerosol son inhalados y depositados hasta la periferia del pulmón, estableciendo una infección subpleural para que estos penetren al organismo, es necesario que la partícula infecciosa sea menor de 10 μm , ya que con esta característica pueden diseminarse mediante las corrientes de aire y así depositarse en los alvéolos pulmonares, en donde rápidamente sintetizan material capsular, de manera que la temperatura, hidratación, y la concentración de dióxido de carbono (CO_2), en los tejidos del pulmón favorecen la producción y tamaño de la cápsula. Cabe citar que las partículas menores a 5 μm pueden llegar a tracto respiratorio bajo (11,26).

Cryptococcus neoformans, prolifera rápidamente si no existe una adecuada defensa celular, en especial células mononucleares (linfocitos, histiocitos etc.) mediante este hecho se puede explicar por qué los pacientes linfomatosos son altamente susceptibles a la enfermedad. Si el proceso infeccioso no se detiene, los microorganismos fácilmente se diseminan por vía linfática y hematogena, con gran predilección hacia el SNC, en donde el líquido cefalorraquídeo (LCR) es además deficiente de un factor fungicida denominado, factor anticriptocócico; en este sistema las lesiones se desarrollan en las meninges y afectan los nervios craneales, tallo cerebral y cerebelo, el cuadro que provoca es generalmente de una meningitis crónica. A partir de este foco puede diseminarse hacia otros órganos como vísceras, piel y huesos como se ilustra en la figura 4 (11, 26, 31).

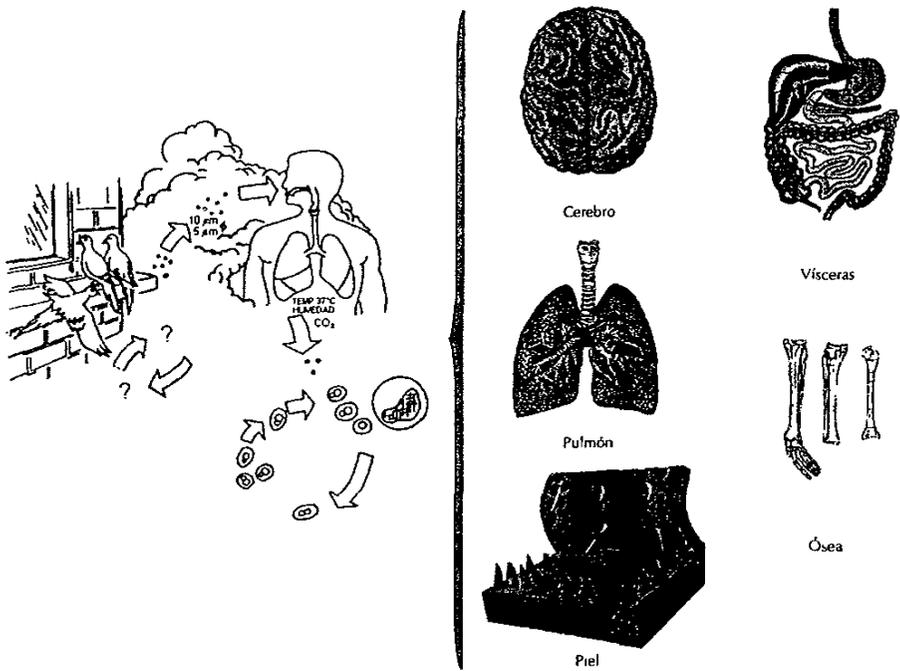


Fig 4 Esquema de la historia natural del ciclo saprofítico y parasitario de *C. neoformans*, así como la diseminación de la criptococosis en el ser humano
Tomado de Murray PR. (11)

VII.- ASPECTOS CLÍNICOS

Clínicamente la criptococosis ha sido clasificada en 5 tipos, siendo estos los siguientes:

Criptococosis	}	Pulmonar (25 %)
		SNC (45 %)
		Cutánea (10 -15 %)
		Diseminada (visceral) (15 %)
		Osea (5 %)

Criptococosis pulmonar

La criptococosis pulmonar es un entidad clínica que por lo regular cursa de manera asintomática o subclínica, la enfermedad casi siempre se localiza en la parte alta y baja del pulmón, pudiéndose presentar en forma unilateral o bilateral, raramente en cavidades con o una mínima fibrosis, presentándose con menor frecuencia colapsos pulmonares masivos. Estas son algunas evidencias de que *Cryptococcus neoformans* se encuentra como un microorganismo comensal en el árbol traqueobronquial (3,4,26).

El hallazgo radiológico típico en la infección criptocócica pulmonar se observa como una masa o consolidación segmentada, en ocasiones con algo de cavitación, sin embargo, las lesiones pueden llegar a confundirse fácilmente con un tumor u otras lesiones en forma de moneda, también pueden observarse infiltraciones que se asemejan a las producidas a la tuberculosis, lesiones sólidas que simulan neoplasias o abscesos pulmonares, y cuando el proceso es crónico se puede observar un moteado miliar difuso, así como la presencia de nódulos (23,26).

Es de suma importancia diferenciar a la criptococosis de la tuberculosis y otras enfermedades micóticas, debido a que no forma linfadenopatías hiliares y *generalmente no afecta el mediastino* (26).

Cameron & Bertlett y Cols (49,50), comprobaron algunas manifestaciones de la criptococosis pulmonar en un grupo de pacientes a los cuales se les sometió a un estudio radiológico. Dichas manifestaciones radican en adenopatías tanto hilar como mediastinal, derrames pleurales y rara vez cavidades.

Las infecciones asintomáticas sólo pueden descubrirse con estudio de rayos X, en donde se observan lesiones pequeñas que con frecuencia pasan desapercibidas, algunas de estas lesiones sanan y calcifican con el tiempo. El examen radiológico de la criptococosis pulmonar se engloban en cuatro categorías. Estas dependen del tiempo de la infección, gravedad y de la inmunidad del huésped, siendo las siguientes:

A) El primer tipo más común, es la aparición de un área de infiltración discreta, solitaria y ligeramente densa en la parte superior del pulmón y algunas veces en la parte inferior de este, por lo regular estas lesiones miden de 2-7 cm de ancho y se pueden extender gradualmente hacia la periferia simulando un carcinoma, absceso o quiste hidatídico. Caracterizándose por masas de levaduras que se desplazan hacia los tejidos del huésped en donde pueden romper las paredes bronquiales originando el esputo mucoide con restos de sangre, pudiéndose o no observar linfadenopatía hilar, acompañada de neumonía criptocócica "Gelatinosa" (Mucinosas) tratándose de lesiones en fase temprana, mientras que en lesiones con más tiempo al sanar se convierten en granulomatosas las cuales rara vez se calcifican (6).

-
- B) El segundo tipo de lesiones se observa como un infiltrado más amplio y más difuso que afecta a las áreas pulmonares superior ó inferior. Está infección puede exacerbarse y extenderse rápidamente a todos los campos pulmonares convirtiéndose en neumonías intersticiales bilaterales resultando un agravamiento de la infección, sin embargo con un diagnóstico apropiado y un rápido tratamiento es probable erradicar enfermedades diseminadas quedando como secuelas la fibrosis (7).
- C) El tercer tipo se presenta con infiltrados peribronquiales extensos los cuales se difunden ampliamente para formar residuos con una apariencia lanosa semejante a las producidas en la tuberculosis activa, con una fibrosis y una necrosis por caseificación, y raramente se presenta la cavitación así como la calcificación. No obstante, es importante mencionar que cualquier tipo de lesión anteriormente citado se presentan en las infecciones primarias, y el grado en que se vea afectado el pulmón esta en relación con la respuesta inmunológica del huésped y con la dosis inhalada del agente infeccioso (6).
- D) La cuarta forma pulmonar, suele presentarse en pacientes con linfoma y leucemias, las lesiones que se manifiestan son pequeños gránulos gelatinosos en todo el pulmón provocando una escasa respuesta tisular, que posteriormente con el tiempo puede generar pequeños granulomas, o una diseminación de la enfermedad (7).

La criptococosis pulmonar tiene muchas manifestaciones y un curso impredecible, ya que puede diseminarse silenciosamente al SNC, lo cual resulta fatal en la mayoría de los casos, los síntomas que se manifiestan comúnmente son disnea, tos seca, dolor de pecho, dolor de cabeza, pérdida de peso, hemorragias pulmonares, presencia de fiebre (6,49,51), además de insuficiencia respiratoria (52), y

rara vez sudoración nocturna, así mismo es frecuente también la disminución de los ruidos respiratorios y el roce pleural. Sin embargo, Rippon (7) manifiesta que los signos y síntomas, tales como tos, fiebre ligera, dolor pleural y pérdida de peso son pocas veces notados.

Se ha reportado que escasamente se produce esputo mucoso y hemólisis, después de la ruptura de un foco criptocócico erosionante en una rama bronquial conteniendo numerosas levaduras. En el caso de una enfermedad fulminante la cual presenta consolidación pulmonar y fiebre alta dando origen a la presencia del Síndrome de Malestar Respiratorio del Adulto (ARDC) (7).

Recientemente Lee & Yang y cols propusieron una nueva forma para el diagnóstico de la criptococosis pulmonar, mediante el uso del ultrasonido, siendo confirmado con aspirados bronquiales y biopsias, con este estudio se reveló que las lesiones criptococales pueden ser detectadas por ultrasonido el cual resultó ser un método sugestivo, rápido y seguro (53).

Criptococosis del SNC

La manifestación más importante de la infección criptocócica sobre el SNC. Esta es también la forma de criptococosis diagnosticada con mayor frecuencia, aunque en realidad no es el sitio más común de la enfermedad; la predisposición de *Cryptococcus* por este sistema aún no ha sido bien establecido, sin embargo, se piensa que esta levadura encuentra en este sitio una menor respuesta celular (fagocítica). Así como la presencia de factores nutricionales necesarios para esta como son la asparagina y creatinina, las cuales se encuentran en LCR y estimulan el desarrollo de las levaduras (7), utilizados como fuente de Nitrógeno (3).

Las lesiones en el cerebro y médula son complicaciones bien reconocidas aunque relativamente poco comunes, en donde las manifestaciones clínicas se relacionan con el sitio anatómico de la lesión (30).

La criptococosis en el SNC se puede presentar en tres formas clínicas:

Criptococosis del SNC	}	- meningitis (97 %)
		- meningoencefalitis (2 %)
		- criptocomas (1 %)

Meningitis: Esta forma clínica es la más frecuente, manifestándose generalmente en forma crónica, la cual resulta ser mortal inexorablemente si no es tratada, sigue un curso de remisiones y recaídas durante meses o años. En el SNC el hallazgo más común es una meningitis basal que consiste en un exudado mucoso adherente, algunas veces llega a encontrarse una estructura gelatinosa, mucoso parecida a un tumor que contiene muchas levaduras y una mínima reacción tisular. Los efectos clínicos son causados principalmente por la presencia misma de la masa más que por la virulencia de la levadura (30).

El inicio clínico pocas veces es agudo y durante las semanas que a menudo transcurren antes de ser diagnosticado el padecimiento, pasa por un curso asintomático, los síntomas iniciales más frecuentes son fiebre constante, pero no intensa (38°C), cefalea persistente, mientras que en una meningitis crónica los signos son rigidez del cuello y dolor de la nuca, conforme avanza la infección los signos se agudizan encontrándose comúnmente náuseas, mareos, ataxia, irritabilidad, alucinaciones, delirio, vértigo, convulsiones Jacksonianas, deterioro mental, hidrocefalia, pérdida de peso, astenia, adinamia, disminución de la agudeza visual, diplopia, parálisis e hipoestesia facial. El papiledema se presenta cerca de un tercio de los casos y la parálisis de nervios craneales alrededor de la quinta parte

(3, 4, 7, 26, 30, 54, 55, 66). En algunos de los casos se puede presentar neurorretinitis, fotofobia, estrabismo y nistagmo (26).

Meningoencefalitis: Es una forma clínicamente rara, casi siempre de curso agudo y fulminante, la presentan pacientes con severas inmunodeficiencias, leucemias, linfomas, intensas corticoterapias. El enfermo presenta todos los signos y síntomas de una meningoencefalitis aguda y rápidamente cae en estado de coma, que en dos o tres días conlleva a la muerte (26).

En un estudio realizado en 1994 por Rozenbaum y Ríos Goncalves, revelaron las manifestaciones clínicas por la que cursaron pacientes con meningoencefalitis criptocócica las cuales fueron principalmente, dolor de cabeza, fiebre, rigidez del cuello, náuseas, vómitos, deterioro de las funciones mentales, dificultad en el lenguaje, deficiencias visuales, papiledomas, diplopía, ataques, deficiencias neurológicas, fotofobia (37), además de somnolencia, anemia, hepatomegalia, alteraciones de la conciencia, síndrome meníngeo incompleto (54).

Criptocomas: El criptocócoma es un granuloma criptocócico único, localizado en el cerebro, el cual resulta ser una entidad conformada de masas de levaduras que se desarrollan en el cerebro, semejando abscesos que comúnmente suelen ser confundidos con neoplasias.

Los criptocomas pueden observarse con ayuda de la tomografía axial computarizada (TAC), si no existe un patrón característico por lo que se debe de encontrar alguna indicación de la existencia de la levadura mediante otros procedimientos. Los antígenos criptocócicos casi siempre son detectados en el LCR en casos de infección activa. Los cuadros clínicos en el LCR no se pueden distinguir de los de la meningitis tuberculosa, y se ha informado de infecciones dobles. Esta última tiene un curso más

rápido y se observa con más frecuencia en niños. La diferenciación de la criptococosis de otras micosis sólo se puede hacer mediante el aislamiento y la identificación de la levadura (6).

El curso de la criptococosis puede ser desde unos cuantos meses hasta años y la mayoría de las veces se detecta cuando el padecimiento ya ha avanzado resultando rápidamente con ésto, un mal pronóstico especialmente en pacientes con alto riesgo los cuales presentan un deterioro progresivo y mortal (26).

Los pacientes que presentan criptocomas desarrollan inicialmente síntomas tales como, cefaleas, náuseas, vómitos, convulsiones Jacksonianas, cambios en la conducta mental, parálisis y hemiplejía. Estos síntomas pueden aparecer durante un periodo de varios meses, y con frecuencia aumentan en gravedad y conllevan al coma, paro respiratorio y muerte (7,26).

Se presentan manifestaciones oculares como son visión borrosa, vértigo, diplopía, fotofobia, oftalmoplejía, nistagmo, ambliopía y papiledema, este último requiere de punciones lumbares múltiples para controlarlo. Los trastornos mentales pueden ser muy notables, e incluyen irritabilidad, agitación, apatía, locuacidad, confusión, e incluso psicosis franca (6).

Algunos pacientes presentan ataques epilépticos, como resultado de las masas granulomatosas que se expanden, se pueden presentar hemiplejías, también es posible que se produzca incontinencia urinaria y pérdida de los reflejos rotulianos y tendón de Aquiles, no obstante algunos pacientes se convierten en hiperreflexivos (6).

Criptococosis cutánea y mucocutánea

Es una forma clínicamente rara, se inicia a partir de la inoculación de la levadura por vía cutánea a través de una solución la cual contiene a la levadura, la afección cutánea y mucocutánea en el hombre suelen ser manifestaciones de una enfermedad diseminada y se presenta más o menos en entre el 10 y 15 % de los casos (7, 26, 57).

Las lesiones de la piel se presentan en forma de pápulas (indoloras), pústulas acneiformes o nódulos que con el tiempo se ulceran, llegando a medir varios centímetros de diámetro. El centro de las lesiones es brillante y plano del cual segrega un exudado que contiene numerosas células de *Cryptococcus*. En pocos casos comprobados de inoculación cutánea primaria, en pacientes inmunológicamente normales, las lesiones fueron chancreiformes y definidas. Por lo regular éstas se resuelven en forma espontánea o bien pueden ser suficiente la extirpación quirúrgica como ha sido reportado por Fattah y col. (6, 26). En pacientes inmunosuprimidos se observan múltiples lesiones pequeñas en la piel semejantes al *Molluscum contagiosum* (15).

La criptococosis cutánea se puede presentar en dos formas:

Criptococosis cutánea	}	C. cutánea primaria
		C. cutánea secundaria

La criptococosis cutánea primaria y secundaria son manifestaciones clínicas que a menudo resulta difícil determinar cuando se trata de una u otra lesión, no obstante Fajardo, Lacobellis y col. reportaron que las lesiones primarias son superficiales y ulcerativas, mas que profundas y necróticas. A diferencia de las secundarias las cuales son ulceraciones superficiales con signos de necrosis y formación de

escamas (7, 26).

- a) *Criptococosis cutánea primaria.*- Las manifestaciones comúnmente observadas en forma de lesiones nódulo-granulomatosas, usualmente polifórmicas e incluyendo nódulos subcutáneos, abscesos, pápulas, pústulas y úlceras (6, 26). Regularmente los sitios afectados dependen del lugar de inoculación y generalmente se presentan en miembros superiores e inferiores (7, 26, 58). Las lesiones primarias con frecuencia se resuelven en forma espontánea, o con la administración intravenosa de Anfotericina B, de esta forma es posible evitar la diseminación de la infección en casos de inmunosupresión.
- b) *Criptococosis cutánea secundaria.*- En general esta forma deriva de una diseminación linfática de criptococosis pulmonar o meníngea, afectando preferentemente cara, cuello y miembros. Las manifestaciones clínicas comúnmente presentadas son similares a la primarias, excepto que en estas aparecen ulceraciones superficiales con signos de necrosis en una área amplia y profunda, así como la formación de escamas, pudiéndose presentar también en forma de lesiones trombóticas profundas o con un aspecto de celulitis (7, 26, 58).

Las lesiones mucocutáneas ocurren casi en una tercera parte con menor frecuencia que en la infección cutánea. Se presenta en forma de nódulos, lesiones granulomatosas o úlceras profundas o superficiales y son focos secundarios de otros focos de infección y en ocasiones afectando labios, nariz, meato urinario y pene (7).

Criptococosis ósea

La afección ósea es una entidad clínica relativamente frecuente, se estima que aproximadamente en el 10% de los casos tienen compromiso óseo. Esta se origina a partir de focos pulmonares y/o meningeos teniendo cierta predilección por huesos largos (fémur, tibia, esternón, etc.), huesos craneales, vértebras, articulaciones, acromio, radio, cubito y clavícula (7,26,59).

En una revisión realizada en 44 casos de criptococosis ósea reportaron que los huesos que fueron afectados por la levadura fueron los siguientes: pelvis afectada en 10 de los casos, vértebras en 9 casos, cráneo en solo 7 de estos. En este estudio se encontró que las lesiones vertebrales se originaron a partir de una infección diseminada (60).

Por lo regular, las articulaciones no son afectadas, salvo por extensión directa, aunque se han registrado lesiones aisladas. No se observa ninguna imagen característica en radiografías, pero las lesiones óseas son parecidas a las blastomicosis norteamericana y coccidiomicosis, es decir, por lo regular son múltiples, discretas, ampliamente diseminadas, destructivas, crónicas que cambian paulatinamente. Sin embargo, el aspecto relativamente estacionario de la lesión y la falta de proliferación en el periostio sugiere más bien criptococosis que otras micosis. La proliferación en el periostio es común en la actinomicosis observándose con frecuencia en la blastomicosis y la coccidiomicosis. La sinovitis (artritis criptocócica) sin afección en los huesos es muy rara (60,9).

Las lesiones más comunes son periostitis, osteofibrosis y sobre todo zonas de osteólisis; en este último tipo de lesiones se puede originar fístulas que salen a piel, y drenan un material seropurulento mucoso. Estudios recientes han reportado que los pacientes con artritis tienden a ser más susceptibles a este tipo

de micosis. La sintomatología más frecuente es dolor óseo intenso y artralgias (3, 4, 6, 9, 26, 54, 60).

Criptococosis diseminada

Este tipo de micosis suele presentarse en el 15 % de la población afectada por *Cryptococcus*, en este tipo de infección cualquier órgano o tejido del cuerpo puede tener focos de infección; entre los órganos afectados se encuentran corazón, testículos, próstata y ojos frecuentemente, mientras que el riñón, glándulas suprarrenales, hígado, bazo y los ganglios linfáticos en general están excentos. Sin embargo Ricchi, Manfredi, Scarani reportaron respectivamente, tres casos de criptococosis diseminada con lesiones en piel, en todos estos casos se realizó el aislamiento de sangre periférica. *Cryptococcus neoformans* se diseminó a casi todos los órganos incluyendo pulmones, hígado, bazo, riñones, tiroides, glándulas adrenales, corazón y páncreas. En dos de los casos las lesiones en piel fue diagnosticada que aparentemente provenía de una infección sistémica (7, 9, 11, 58). También se han reportado lesiones en pacientes inmunosuprimidos en lengua así como linfadenopatías abdominales (9).

Las lesiones que se producen son granulomatosas y gelatinosas que se asemejan sintomática y histopatológicamente a las neoplasias malignas, sobre todo a las del tipo mixomatoso, también lesiones granulomatosas son parecidas a las producidas por tuberculosis (61, 62).

El ojo es afectado ya sea por extensión directa desde el espacio subaracnoideo o por diseminación hematogena desde otros sitios; esto causa formación de múltiples lesiones en el tracto uveal, retina y humor vítreo (coriorretinitis criptocócica). No obstante las manifestaciones oculares de la criptococosis incluyen papiledema, atrofia óptica, parálisis del motor extraocular, escotoma y coriorretinitis, esta última ha sido reportada en varios casos. La ceguera es una de las secuelas permanentes de la infección

en los ojos, esta puede presentarse bilateralmente , también a menudo puede preceder a otras manifestaciones de la infección por *Cryptococcus* (61,62).

La infección en el ojo comienza en el coroido y se extiende a la retina y finalmente a el humor vítreo. Han sido reportados casos en donde la queratitis criptocócica ocurre solo como una complicación del trasplante de cornea (63).

En casos raros, los pacientes han presentado cuadros de abdomen agudo en el que sólo está afectado el hígado rara vez dolor en el epigastrio, la afección masiva de las suprarrenales puede dar lugar a signos de enfermedad de Addison. Las infecciones corticoadrenales son comúnmente encontradas en la necropsia, frecuentemente se presentan cuando las suprarrenales están afectadas, ya que existen pequeñas áreas de obliteración debidas a granulomas criptococales, a diferencia de como ocurre en la necrosis masiva tóxica o por caseificación que se encuentra en otras infecciones por hongos. Por lo consiguiente, los signos de insuficiencia suprarrenales son raros en la criptococosis (7).

Otras manifestaciones clínicas raras de criptococosis incluyen endocarditis, prostatitis, hepatitis, secreciones de los nodulos linfáticos, sinusitis, lesiones esofageales localizadas, lesiones en la boca, estómago, intestino aparato reproductor femenino (6, 7, 64, 65).

La criptococosis en vías gastrointestinal y genitourinaria se encuentran con menor frecuencia, pueden ser de tipo gelatinoso o granulomatoso, pero rara vez manifiestan síntomas antes de la muerte. Así también existen casos en los cuales los primeros síntomas de presentación de la enfermedad criptocócica no se relacionan con los órganos usualmente afectados. Estas raras manifestaciones de un solo órgano incluyen estenosis de colon, tiroiditis, endocarditis, criptococoma de epiplón, afección de

mama, hipersensibilidad de músculos profundos, colongitis, lesiones en labios, meato urinario y pene. Sin embargo es importante recalcar que aunque estos pueden ser los sitios "primarios" de presentación clínica, la puerta de entrada de la levadura continúa siendo el pulmón (6,7).

En la etapa tardía de la enfermedad y la diseminación de la levadura vía hematógena (criptococemia) y los microorganismos se observan en las asas glomerulares de los riñones. Así como en los capilares de muchos sistemas. Sin embargo, si pasa suficiente tiempo antes de la muerte, se desarrollan lesiones en estos órganos apreciándose pequeños quistes gelatinosos en bazo y pequeños granulomas organizados en ganglios linfáticos. En éstos no aparecen focos necróticos y granulomas fibróticos. También con menor frecuencia en miocardio, hígado y páncreas se encuentran pequeñas lesiones en forma de granuloma o criptocomas y casi nunca presentan sintomatología (6,7).

También en algunos informes publicados de numerosas series de necropsias, se encuentran registradas muy pocas lesiones criptocócicas en testículos, timo, tiroides, pero no en la glándula hipófisis. Así mismo no se han registrado la presencia de lesiones criptocócicas en músculo esquelético, laringe, tráquea. Muy rara vez, se han encontrado infecciones nosocomiales ocasionada por *Cryptococcus neoformans*, seguida de un establecimiento de la infección y muerte esta bien comprobada (6, 7).

Otras formas clínicas de criptococosis

Cryptococcus neoformans es frecuentemente aislado de orina de pacientes con infección diseminada ocasionalmente presentan signos de pielonefritis o prostatitis, otras formas raras de criptococosis ocurren lesiones corticodrenales, endocarditis y hepatitis (9, 66).

VIII.- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En general, la criptococosis a menudo se confunde con neoplasias malignas sobre todo en la infección pulmonar y del SNC, en donde hay signos y síntomas de masa en expansión en cuatro de las cinco formas de la criptococosis se asemejan a tuberculosis u otras enfermedades fúngicas, en donde estas lesiones son obstructivas y obliterantes que neuróticas (26).

En el caso de meningitis criptococal suele ser confundida con tumores cerebrales aun realizando una topografía axial computarizadas de Contraste (TAC). En un estudio realizado a pacientes con SIDA, los cuales presentaron lesiones focales en donde se observaron tanto en TAC como en radiografías clínicas un parecido estrecho a la toxoplasmosis. Sin embargo cuando no se presentan lesiones focales como es el caso de la meningoencefalitis es distinguida de la meningitis debida a *Mycobacterium tuberculosis*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Sporothrix schenckii*, *Brucella sp*, *Actinomyces sp*, entre otras infecciones raras y carcinomatosis meníngeal difusa (67).

A los pacientes que presentaron hidrocefalia les fue realizada una punción lumbar, para poder dilucidar si esta afección era causada por *Cryptococcus sp*, además de evaluar las características del fluido lumbar encontrando diferencias tales como pleurocitosis, proteínas elevadas en el caso de pacientes sin SIDA, además la presión al ser realizada la punción es a menudo elevada, en estos pacientes la criptococosis pulmonar se relaciona con otras infecciones oportunistas en donde la criptococosis no es distinguida clínicamente debido a las discretas lesiones observadas mediante el uso de rayos X, así como la ausencia de fiebre sugiere más bien procesos neoplásicos (67).

La mayoría de las veces *Cryptococcus neoformans* es raramente aislado de esputo, excepto con una enfermedad cavitaria del pulmón o una infección extensamente diseminada, debido a que la levadura se encuentra como saprófito en el árbol bronquial, no representando de esta manera la causa de la infección en los pacientes, en estos casos se sugiere la detección del antígeno criptocócico el cual resulta ser positiva sólo en pacientes con infiltrados pulmonares extensos o una diseminación extrapulmonar.

En los casos en donde el cultivo de esputo o lavado bronquial, tinciones y prueba para la detección del antígeno anticriptococal en el suero resultan ser negativos, es recomendable realizar una biopsia transbronquial; la cual resulta ser útil para establecer el diagnóstico (6, 32).

La criptocosis cutánea es fácilmente confundida con *Molluscum contagiosum*, úlceras de diversa índole, carcinomas o sarcoidosis. El cultivo del exudado son útiles en el caso de lesiones ulceradas o también puede tomarse una biopsia de el centro de la lesión con su respectivo cultivo y examen histológico se logrará un diagnóstico acertado (58).

Diagnóstico de laboratorio

Para poder establecer un diagnóstico confiable es importante llevar a cabo el aislamiento e identificación de la levadura que se encuentra produciendo el daño, basándose en estudios micológicos, histopatológicos y serológicos.

A) Pruebas micológicas

Las muestras que se utilizarán para el diagnóstico de la criptococosis son :

- Lavado bronquial,
- Líquido cefalorraquídeo,
- Exudado,
- Biopsias,
- Orina,
- Espudo

El tratamiento de las muestras anteriormente enlistadas se realiza de la siguiente manera.

- **Examen directo**

En el caso de LCR deben de ser centrifugados a 5000 rpm/3 min. antes de realizar el montaje de la tinción con tinta china, tinción de Gram y la tinción de resaltado capsular (1).

La tinción de tinta china es una prueba rápida de rutina utilizada para la identificación de la cápsula de *Cryptococcus neoformans* a partir de muestras clínicas en las cuales se sospecha de la presencia de esta levadura, observándose la cápsula refringente (1).

Con la tinción de Gram es posible observar las levaduras Gram positivas debido a que su membrana citoplasmática es capaz de retener el colorante primario (1).

La tinción de resaltado capsular es una técnica fácil de realizar y consiste en fijar ligeramente la muestra a la flama, adicionar fucsina fenicada y esperar 2 min., lavar y posteriormente realizar un frotis con tinta china, esta permitirá observar los cuerpos de la levadura teñidos de rojo y la cápsula transparente (109).

En caso de muestras de esputo y pus deben de ser digeridas con hidróxido de potasio (KOH) al 10 % antes de montar la preparaciones y observarlas al microscopio. En este caso el empleo del hidróxido de potasio actúa como una sustancia aclarante para facilitar el estudio (1).

Las muestras de exudados y lavados bronquiales se trabajan directamente, y las condiciones de manejo dependerán de las tinciones que se les realicen.

- **Cultivo**

Los medios de cultivo utilizados comúnmente para el aislamiento de *Cryptococcus neoformans* son Sabouraud Dextrosa Agar (SDA), Agar semilla de alpiste (Medio de NIGER ó Medio de Staib & Senska), Agar Infusión Cerebro Corazón (BHI), Extracto de levadura, En todos estos medios excepto el medio de Niger se observan colonias mucoides, convexas y brillantes de color blanco amarillento al inicio, tomando más tarde un aspecto mucoso con apariencia de leche condensada (1,7).

El medio de Niger es ampliamente utilizado para el primo aislamiento de *Cryptococcus*, el cual es bastante útil para detectar e identificar a *Cryptococcus neoformans*, ya que es la única levadura en su género capaz de asimilar al ácido cafeínico que se encuentra en estas semillas (*Guizotia Absyssinica*) produciendo un pigmento café oscuro de tipo melanoide (29, 68). El crecimiento de la levadura en este medio, se obtiene con el desarrollo de colonias café oscuro opacas y en ocasiones con apariencia mucoidal y vidriosa. Estas últimas características se presentan cuando se trata de cultivos jóvenes y recién aislados (36).

Hopfer y Groschel desarrollaron una prueba más rápida en cuanto a la preparación del medio en donde se utiliza como sustrato el componente activo del alpiste (ácido cafeínico), las levaduras especialmente de este género que contengan la enzima (35, 69).

Microscópicamente se observa como un hongo levaduriforme capsulado que llega a medir de 15 a 20 μm de diámetro, en ocasiones puede ser hasta de tres veces el tamaño normal, en los medios de cultivo muy viejos o resembrados la cápsula puede reducirse e inclusive hasta desaparecer, una forma de evitar este fenómeno es resembrando la levadura en LCR estéril o realizar varios pases en medios altamente ricos tales como: Extracto de Levadura Glucosa Peptona Agar (YEPD), Agar Dextrosa Sabouraud (SDA) e Infusión Cerebro Corazón (BHI). En ocasiones excepcionales se observan pseudohifas similares a *Candida spp*, pero con la presencia de un margen capsular (4, 7).

Identificación bioquímica

Para diferenciar al género *Cryptococcus* de otras levaduras se realizan las siguientes pruebas bioquímicas que se presentan en la tabla N° 1.

Tabla N°1

Características de las especies de *Cryptococcus* encontradas con mayor frecuencia en las muestras clínicas

Especies de <i>Cryptococcus</i>	Asimilación										Fermentación					Otras reacciones									
	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa	Galactosa	Melibiosa	Celobiosa	Inositol	Xilosa	Rafinosa	Trehalosa	Dulcitol	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa	Galactosa	Trehalosa	Ureasa	Reducción de nítrato	Seudohifas	Crecimiento a 37° C	Tubos germinales	Cápsulas en tinta china	
<i>C. neoformans</i>	+	+	+	-	+	-⊕	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	R	+	-	⊕	+
<i>C. uniguttulatus</i>	+	+	+	-	-⊕	-	-⊕	+	+	+	+	*	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>C. albidus</i> var. <i>albidus</i>	+	+	+	+	-⊕	-⊕	+	+	+	+	+	⊕	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. laurentii</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>C. luteolus</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	⊕	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>C. albidus</i> var. <i>diffusus</i>	+	+	+	-	-⊕	⊕	+	+	+	+	+	⊕	-	-	-	-	-	-	+	+	⊕	+	+	+	+
<i>C. terreus</i>	+	+	⊕	-⊕	-⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	-	-	-	-	-	-	+	+	⊕	+	+	+	+
<i>C. gattii</i>	+	+	-⊕	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	⊕	-	-	-	+

* = positiva, R = hifa ocasional a raras, - = negativo

⊕ Variación de cepas en la asimilación

Tomado de Murray PR. (11)

Prueba de Urea

La prueba de producción de ureasa resulta útil especialmente en la diferenciación de los géneros *Cryptococcus* y *Candida*, en donde todos los *Cryptococcus* dan reacción positiva a la producción de esta enzima a diferencia de las especies del género *Candida* que son urea negativo, excepto *Candida krusei* y especies del género *Rhodotorula* también son ureasa positiva, para diferenciarlas se realizan pruebas como la observación de pigmento en la colonia de rojo-naranja y la no asimilación de inositol (9)

La degradación de la urea es catalizada por una enzima específica, la ureasa, para dar dos moléculas de amoniaco. En solución la urea se hidroliza, dando carbonato de amonio como producto final (70).

Las cepas fuertemente productoras de ureasa de *Cryptococcus neoformans* a menudo producen un cambio de color dentro de las dos primeras horas de incubación a 35 °C. Como alternativa puede usarse la prueba selectiva rápida de ureasa descrita por Zimmer y Roberst, que puede producir resultados positivos de 10-30 minutos (71).

Ruane, Welker y col. reportaron el primer aislamiento de cepas de *C. neoformans* ureasa negativa de un caso de criptococosis diseminada en un paciente con SIDA (72).

También Zimmer y Roberts reportaron cepas de *C. neoformans* ureasa negativa empleando un método de ureasa rápido (71).

Actualmente Bava y Negroni, reportaron cepas de *C. neoformans* ureasa negativa las cuales fueron aisladas de pacientes con SIDA, la identificación de estas levaduras de *C. neoformans* ureasa negativas fue confirmada por pruebas, fisiológicas y de patogenicidad (73).

Prueba de Asimilación de Carbohidratos

En el género *Cryptococcus*, la fermentación de carbohidratos es negativa y la asimilación de inositol es positiva, por lo que es posible diferenciarlo del género *Rhodotorula* (74).

Con la prueba de asimilación de carbohidratos, se determina la capacidad de un microorganismo de oxidar a los azúcares y otros compuestos orgánicos en las que intervienen las enzimas secretadas por el microorganismo para degradar las sustancias en alcoholes y anhídrido carbónico (70,75).

Prueba de reducción de nitratos

La prueba de reducción de nitratos es útil para diferenciar a las especies de *Cryptococcus*, ya que algunas especies presentan características idénticas en la asimilación de carbohidratos.

Mediante esta prueba se determina la capacidad de un microorganismo de reducir el nitrato en nitritos o en nitrógeno libre. La reducción del nitrato (NO_3^-) en nitrito (NO_2^-) tiene lugar generalmente en condiciones anaeróbicas, en las cuales un organismo obtiene su oxígeno del nitrato. (70)

Sin embargo, las posibilidades del producto final de reducción del nitrato son muchas, nitrato, amoníaco, nitrógeno molecular, óxido nítrico, óxido nitroso o hidroxilamina. El producto final es el nitrógeno molecular (un gas) por medio de la reducción del nitrito. Estos productos según las condiciones del medio ya no son oxidados o asimilados en el metabolismo celular, sino que se excretan en el medio circundante.

En la reducción del nitrato pueden producirse varios procesos para la utilización de los productos terminales formados. El amoníaco y la hidroxilamina pueden ser asimilados en componentes celulares que contengan nitrógeno. (proteínas, y ácido nucleicos) para la síntesis de nuevos compuestos. La reducción por lo tanto, se manifiesta por la presencia de un producto final catabólico o la ausencia de nitrato en el medio. (70)

Prueba de patogenicidad en ratón

Otra prueba utilizada para la identificación de *Cryptococcus* es la patogenicidad en ratón, la cual es auxiliar en el diagnóstico de *Cryptococcus neoformans*, ya que esta levadura es la única especie en

su género patógena para el ratón. La infección se manifiesta entre los 8 y 15 días después de la inoculación, provocando en los ratones alteraciones en su comportamiento. La muerte instantánea o durante las primeras 48 horas se debe al traumatismo causado por la inoculación (1, 26).

Actualmente se han desarrollado pruebas para las características de *Cryptococcus neoformans* basadas en la diferenciación de bioquímicas, permitiendo la formulación de medios tales como:

Medio de creatinina-dextrosa-azúl de bromotimol (CDB)

Este medio contiene creatinina, dextrosa y azúl de bromotimol. En este se favorece el desarrollo de *Cryptococcus neoformans* variedad *gattii*, mientras que *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* es inhibida (36, 46).

Medio de canavanina-glicina-azúl de bromotimol (CGB)

Las diferencias bioquímicas que presentan las dos variedades de *Cryptococcus neoformans* son: la var. *gattii* no es inhibida por la canavanina en cambio la var. *neoformans* su desarrollo es inhibido tanto por la canavanina como por la glicina, cuando ambas se encuentran presentes en el medio. Este medio cuenta con la glicina como única fuente de carbono y nitrógeno, la canavanina como inhibidor selectivo y el azúl de bromotimol como indicador de pH (36).

Generalmente mediante la observación del tipo de crecimiento en el medio CGB, es posible diferenciar entre ambas variedades, sin embargo se han desarrollado otras pruebas mediante las cuales se puede corroborar ambas variedades tales como son :

Prueba de asimilación de D-prolina

Esta prueba se basa en la utilización de la D-Prolina como única fuente de nitrógeno, así como para la diferenciación rápida entre las variedades del *Cryptococcus neoformans*. La D-Prolina se emplea en discos impregnados al 20% de este reactivo sobre placas con medio de "yeast" carbón base previamente sembrados con las cepas a identificar (6, 47).

Prueba de inhibición de ureasa mediante el EDTA

Mediante el empleo de esta técnica es posible diferenciar entre las dos variedades de *Cryptococcus neoformans*, ya que el EDTA reduce la actividad de la ureasa del *Cryptococcus neoformans* variedad *gattii*, mientras que la *var. neoformans* es más resistente al EDTA (6, 34, 48).

B) Estudio histopatológico

Al ser obtenidos especímenes de tejido la criptococosis puede ser diagnosticada mediante cortes histológicos, siendo estos útiles sobre todo en casos cutáneos en donde es posible observar una reacción tisular que varía considerablemente del órgano afectado y el tipo de criptococosis de que se trate, frecuentemente se encuentran macrófagos tisulares y en algunos casos pueden encontrarse células gigantes e infiltración densa de células plasmáticas, linfocitos, eosinófilos e histiocitos (1,7,26).

Los patrones histológicos se presentan de dos formas: gelatinosos y granulomatosos. En una lesión pueden encontrarse ambas formas. En la forma gelatinosa existen masas de microorganismos dentro de células gigantes e histiocitos y la degeneración mucoide del tejido invadido en las lesiones de forma

granulomatosas son menores que en lesiones gelatinosas. En éstas las levaduras en su mayor parte se encuentran libres en los tejidos y el tamaño de las levaduras varía de 5 a 10 µm. Esta forma granulomatosa predomina en el cerebro en forma de lesiones líticas con cavidades y en el caso de los pulmones, la fibrosis (1, 7, 26).

La técnica de anticuerpos fluorescentes ha sido usada satisfactoriamente para detectar e identificar a *C. neoformans* en preparaciones de tejido y en cultivo (76).

Entre las tinciones utilizadas comúnmente para la identificación de *C. neoformans* son:

Tinción de hematoxilina - Eosina

En ésta las levaduras se observan rodeadas por un espacio claro que corresponde a la cápsula, a menudo la levadura está en un infiltrado con un número variable de histocitos, sin embargo con esta tinción en algunas ocasiones no se observa claramente, por lo que se requiere realizar otro tipo de tinciones para confirmar la presencia de la levadura en el tejido (7, 33).

Tinción de Giemsa

Con el empleo de esta tinción es posible observar claramente la separación entre la cápsula y el cuerpo de la levadura, observándose como un espacio claro. El empleo de esta tinción facilita el diagnóstico de *Cryptococcus neoformans*, en pacientes con SIDA (77).

Tinción ácido periódico de Schiff (PAS)

En esta tinción el cuerpo celular de la levadura de *Cryptococcus neoformans*, es teñido, y la cápsula permanece incolora, semejando un halo alrededor de ésta (33).

Tinción de mucicarmina de Mayer

Esta es utilizada para observar con claridad a la levadura, en donde la cápsula se tiñe de color rosa-rojo, aun encontrándose pocas levaduras en la preparación, siempre y cuando no existan levaduras aglomeradas. La cápsula es teñida debido a la presencia de mucopolisacáridos ácidos, los cuales retienen el colorante, sin embargo esta tinción no ayuda a distinguir a la levadura de otros hongos que posean características morfológicas semejantes (6, 7, 33).

Tinción de metenamina de plata (Gomori-Grocott)

El empleo de esta tinción distingue claramente las levaduras de *Cryptococcus neoformans*, teñidas de negro y permitiendo observar características de tamaño y forma de la levadura y en esta tinción, la cápsula es reducida durante la fijación de la preparación (33).

Tinción de plata de Masson-Fontana -melanina

Esta tinción se emplea para distinguir células de *Cryptococcus* carentes de cápsula en cortes de tejidos (78, 79). Esta ha sido utilizada en combinación con tinciones capsulares tales como la de Mucicarmina de Mayer y la de azul de alcian (33). La combinación de Masson-Fontana con cualquiera de las combinaciones de mucina permite distinguir la pared celular de la levadura y la cápsula. No se han

reportado interferencias por la combinación de estas tinciones, las cuales resultan de gran ayuda para la identificación de criptococosis (14)

C) Estudio serológico

El serodiagnóstico de la infección Criptocócica ha recibido mucha atención, y en la actualidad se está convirtiendo en un procedimiento útil. Debido a la naturaleza inerte, desde el punto de vista inmunológico del polisacárido capsular, es poca la reacción humoral o alérgica que provoca la infección con *Cryptococcus neoformans*. Por esta razón no se ha desarrollado una prueba cutánea satisfactoria o pruebas inequívocas de fijación de complemento o de hemaglutinación. Hasta ahora las pruebas diagnósticas y pronósticas se pueden utilizar con el fin de medir el antígeno cápsular criptococal en suero y LCR (17, 80).

Actualmente se han realizado varias pruebas serológicas para el diagnóstico de la criptococosis. No obstante, la detección del antígeno cápsular de *Cryptococcus* es útil clínicamente como una prueba de rutina, la presencia del antígeno se determina mediante pruebas de aglutinación con partículas de látex, comercialmente se encuentran disponibles diferentes presentaciones comerciales, los cuales deben contener controles para aglutinaciones no específicas como pueden ser el factor reumatoide en el suero (81). Una forma para eliminar falsos negativos debido a este factor, es la utilización de la pronasa como un pretratamiento del suero antes de realizar el ensayo para la detección del antígeno capsular, los especímenes del LCR, no requieren de este pretratamiento con pronasa. Mediante la utilización de esta prueba se obtuvo una sensibilidad del 90%, mostrando también ser útil para el diagnóstico de criptococosis pulmonar (81,82).

El antígeno criptococal también puede ser detectado en fluidos de lavados broncoalveolares, exudado pleural, y orina, pero aún estos procedimientos no han sido estandarizados. Un falso positivo en las pruebas de aglutinación en latex puede ocurrir cuando muestras de LCR son contaminadas con las trazas de condensación de superficies del medio de agar chocolate y otros. La reacción de aglutinación en látex también puede dar falsos positivos con el LCR de pacientes infectados con DF-1 (bácilos gram negativos) (83). También han sido reportados resultados falsos positivos debido a reacciones antigénicas cruzadas en infecciones diseminadas con *Trichosporon beigeli* (84).

La realización de inmunoensayos (EIA) desarrollado para la detección del antígeno del polisacárido capsular de *Cryptococcus*, también resulta poseer una alta especificidad y sensibilidad, este ensayo utiliza un sistema de captura policlonal y un sistema de detección monoclonal, no necesita que los especímenes de suero o LCR sean pretratados, y a diferencia de las pruebas de aglutinación en latex, este inmunoensayo es aún más sensible, fácil, rápido y seguro, utilizado para el diagnóstico temprano del antígeno Criptococal, así también como un método de monitoreo a la respuesta terapéutica de los pacientes (85, 86, 87)

La utilización de secuencias repetitivas de DNA para *Cryptococcus neoformans* en sus especies y variedades son específicas y pueden ser usadas para pruebas de hibridación para distinguir a *Cryptococcus neoformans* de otros hongos levaduriformes tales como *Candida albicans*, que abundan en secreciones respiratorias en pacientes con SIDA. Los primeros oligonucleótidos desarrollados de esta secuencia hace posible el desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), empleando esta prueba para el diagnóstico temprano de la criptococosis, siempre y cuando esta infección sea limitada al pulmón y se encuentre presente en secreciones del tracto respiratorio en niveles bajos, y puedan ser detectados con métodos comúnmente empleados en el diagnóstico, antes de la

diseminación y colonización a otros órganos. Este ensayo puede ser empleado para la biotipificación de cepas en estudios epidemiológicos y clínicamente puede usarse para la evaluación del tratamiento empleado, además de monitorear los cambios en los patrones de patogenicidad de dicha levadura (88).

IX.- TRATAMIENTO

El tratamiento de la criptococosis se prescribe con base en la severidad de la enfermedad, y debe tenerse en cuenta que la terapia en el caso de la criptococosis diseminada es complicada, debido a que ésta se presenta en pacientes casi siempre inmunosuprimidos como consecuencia de una disminución en la capacidad natural para poder desarrollar una respuesta inmunológica y así combatir la infección (89).

El tratamiento de elección es a base de anfotericina B, administrada por venoclisis en una dosis de 20 mg. al día durante 10 semanas o bien, dosis pequeñas y progresivas cada tercer día hasta una dosis total de 1 a 2 gr. A quienes se les administra este tratamiento se recomienda sean hospitalizados para su administración, además de ser sometidos bajo observación médica para evaluar los efectos del fármaco en los pacientes (90).

Otro tratamiento para la criptococosis es a base de 5 Flurocitosina la cual se administra oralmente a una dosis de 150 mg/kg al día dividida en cuatro tomas al día, sin embargo han sido reportados casos en donde se observa una rápida resistencia a este medicamento, debido a esto se han propuesto tratamientos a base de combinaciones de medicamentos, en donde es comúnmente utilizado la Anfotericina B más 5 Flurocitosina (7).

La meningitis criptocócica constituye un modelo para la aplicación del tratamiento antimicótico combinado. La Anfotericina B muestra actividad frente a *Cryptococcus neoformans*, pero con una escasa penetración en el LCR; a diferencia de la 5-Flurocitosina la cual penetra adecuadamente en este fluido, aunque las cepas presentan frecuentemente resistencia a este fármaco. Mediante ensayos

clínicos controlados se han demostrado que la combinación de Anfotericina B más 5-Fluorocitosina durante seis semanas producen los mismos resultados que el tratamiento con Anfotericina B, durante 10 semanas (7, 15, 91, 92), esta combinación crea un sinergismo, aumentando su potencia y disminuyendo la toxicidad. Si no hay respuesta se justifica el empleo de Anfotericina B, por vía intratecal, sin exceder de 1 mg, disolviéndose en 5 ml de LCR antes de ser administrado, realizándose cada tercer día (6), sin embargo, las recaídas después del tratamiento suelen presentarse independientemente del tipo de medicamento utilizado por lo que se ven obligados los médicos a incrementar las dosis de estos; esto ha representado una grave problemática, misma que ha originado la creación de nuevas formas farmacológicas, además de la utilización de nuevos fármacos como los derivados de la Anfotericina y del Imidazol, los cuales han sido propuestos como una terapia alternativa a la AMF-B, siendo el Miconazol y el Ketaconazol, utilizados actualmente para el tratamiento de las infecciones micóticas sistémicas. Estos medicamentos aumentan la permeabilidad de la membrana del hongo inhiben la captación de precursores de RNA y DNA bloqueando así la síntesis de diversas enzimas, oxidativas y peroxidativas (1, 24, 30, 93).

Un estudio realizado por Albert Graybill y Col (95) indujeron la meningitis criptococosa en ratones, administrando células de *Cryptococcus neoformans* intratecalmente y empleando como terapia una combinación de Anfotericina B con un azol llegando a la conclusión de que ésta disminuye la toxicidad, además de poder ser usado como terapia alternativa en aquellos pacientes quienes no respondieran a la terapia estándar de la criptococosis.

Para el tratamiento de la criptococosis localizada, pulmonar o sistémica a surgido una nueva opción del uso de la Anfotericina B, como es la Anfotericina B liposomal, la cual puede ser administrada vía intravenosa, con una dosis de 1 mg/Kg hasta 3 mg/Kg o bien en forma de aerosoles; esto ha sido

reportado mediante numerosos estudios, los cuales revelan la eficacia de este fármaco independientemente de la vía de administración utilizada, observándose una disminución en el número de células, una prolongación en los periodos de recaída en los pacientes, contando además con una buena tolerancia. Con estas características lo hace ser un medicamento ideal para el tratamiento de la criptococosis (95, 103-107).

El miconazol tiene cierta eficacia clínica contra *C. immitis*, *C. neoformans*, algunas especies de *Candida* y *Paracoccidioides brasiliensis*. No obstante, su administración produce diversos efectos colaterales como flebitis, prurito, náusea, vómito e hiponatremia (1, 30, 94).

Debido a las restricciones importantes acerca de la eficacia y toxicidad potencial del Miconazol, es probable que su uso deba considerarse sólo en:

- En casos de candidiasis esofágica o como profilaxis en la que se utilizaban ciclos cortos con dosis bajas de anfotericina B anteriormente.
- En pacientes que no respondan al tratamiento con anfotericina B.
- En individuos que no pueden tolerar los efectos tóxicos de la anfotericina B. Cuando se utiliza para estos propósitos (104).

El miconazol se administra en dosis de 20 a 40 mg/kg/día, dividido en tres dosis iguales; cada dosis se diluye en 200 ml. de SSF o en solución de dextrosa al 5% administrándose por vía intravenosa durante un lapso de 30 a 60 min. (104).

El Ketaconazol es el primer antimicótico eficaz, administrado por vía oral contra un gran número de

infecciones micóticas sistémicas, incluyendo las producidas por especies de *Candida*, *C. neoformans*, *C. immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces*, algunos tipos de dermatomicosis. Dentro de las características farmacocinéticas del Ketaconazol son importantes :

1. La absorción de este fármaco administrado por vía oral depende de su conversión a una sal en el medio ácido del estómago. Por lo tanto, este medicamento no puede utilizarse si el paciente padece aclorhidria o está recibiendo bicarbonato, antiácido o cimetidina y sus derivados.
2. Debido a que el hígado metaboliza casi por completo al ketaconazol, no es necesario modificar la dosis en la insuficiencia renal.
3. La penetración en el LCR es pobre a la dosis convencional de 200 a 400 mg/día; para alcanzar concentraciones potencialmente eficaces en el LCR es necesaria una dosis diaria de 800 a 1 200 mg.
4. Debido a que sólo el 13% del medicamento se excreta en la orina, principalmente en forma de metabolitos inactivos, el ketaconazol no es muy eficaz para la infección micótica de las vías urinarias.

El ketaconazol también parece evitar la germinación de *Candida albicans*, permitiendo de esta manera la fagocitosis y destrucción más eficaz del hongo por los neutrófilos. (30)

El fármaco más promisorio es el fluconazol por su penetración a cerebro; se administra en una dosis de 150 a 450 mg/día vía oral, es recomendable iniciar con 40 mg/día y continuar con 200 diariamente. También ha sido utilizado en el tratamiento de peritonitis criptocócica en pacientes con SIDA, han sido

utilizadas altas dosis de fluconazol como terapia para este grupo de pacientes, los cuales fueron tratados con 800 mg/día durante cuatro meses y medio (100) y como profilaxis primaria en infecciones sistémicas (101) en pacientes con HIV-positivo.

A pesar de poseer una buena tolerancia este medicamento no ha mostrado ser más eficaz que la combinación de Anfotericina B con 5 Fc, otra presentación de fluconazol la cual se administra intravenosamente no mostró resultados satisfactorios, ya que el paciente presentó un deterioro notable (102).

Otro medicamento utilizado en la criptococosis es el Itraconazol, el cual se administra por vía oral, posee un amplio espectro, aproximadamente el 90% se une a proteínas plasmáticas, es metabolizado en el hígado. El fármaco sin cambios es eliminado por vía renal a través de filtración glomerular y dentro de las reacciones adversas que presenta este fármaco se contemplan náuseas y cefalea leve.

En caso de micosis profundas no se ha logrado establecer esquemas fijos de tratamiento y la dosis es de una cápsula al día de 100 mg. y la duración del tratamiento depende de la respuesta del paciente. En el caso del esquema de tratamiento de 3 días se recomienda tomar dos cápsulas juntas con alimentos durante los días señalados.

X.- METODOLOGÍA

- Planteamiento del problema.

- Selección de cinco instituciones de salud pública dentro de las cuales se concentran un número mayor de pacientes. Esta se basó en la autorización al acceso de la información, debido que ésta es considerado como confidencial. Dichas instituciones son:
 - Hospital General de México (M.C. Alexandro Bonifaz Trujillo)
 - Hospital de Infectología del Centro Nacional "La Raza" (Q.B.P. Ma. Luisa Rojas y Q.B.P. Patricia García)
 - Hospital Juárez de México (Q.F.B. Misael González Ibarra)
 - Hospital Regional Ignacio Zaragoza (Q.F.B. Ma. del Rocío López Alvarez)
 - Hospital Regional 1º de Octubre (Q.F.B Lidia Caballero García)
 - Centro Médico Nacional 20 de Noviembre (Q.F.B. Edith Santillán)

- Las instituciones anteriormente mencionadas debían contar con archivos los cuales contaron con información del periodo en estudio.

- Se procedió a recopilar datos de interés tales como: fecha, nombre y número de expediente del paciente, sexo, edad, lugar de procedencia, tipo de criptococosis diagnosticada, tipo de muestra, seropositividad al HIV y datos de laboratorio (pruebas como tinta china, Gram, cultivo, prueba de latex).

- Se acudió a las instituciones para concertar citas con jefes de departamento de enseñanza, jefe de laboratorio, jefe de sección de bacteriología o bien sección de micología.

- Se llevó a cabo la consulta de expedientes, historias clínicas y resultados de laboratorio.

-
- Se cotejó el diagnóstico médico con el reportado por el laboratorio.
 - Obtención de datos para el establecimiento de la relación que existe entre el HIV (Virus de la Inmunodeficiencia Adquirida) ó algún otro tipo de inmunodeficiencia predisponente a la criptococosis.
 - Se determinó la incidencia de criptococosis en el periodo comprendido 1990-1996 en la Ciudad de México.
 - Se llevó a cabo un análisis estadístico de los datos recopilados, realizando la prueba de hipótesis.
 - Es importante la búsqueda y recopilación de bibliografía con el fin de actualizar el tema y a la vez cotejar los resultados obtenidos con los ya antes expuestos.

XI.- RESULTADOS

Durante el estudio realizado en las distintas Instituciones de Salud Pública en la Cd. de México, fueron captados un total de 265 casos de Criptococosis durante el periodo de 1990-1996, en donde se observa que la Institución con un mayor número de casos registrados de Criptococosis es el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional "La Raza" con 141 casos, seguida del Hospital General de México con 73 casos; Hospital Juárez de México 33 casos, y Hospital Regional Ignacio Zaragoza con 18 casos (Tabla 2)

En base a los datos obtenidos, se pudo observar que este tipo de micosis se presenta con mayor frecuencia en el sexo masculino en una proporción 4:1 con respecto al sexo femenino; mientras que la criptococosis relacionada al HIV se obtuvo una incidencia del 73.5% y 26.5% de esta afección vinculada a otro tipo de inmunodeficiencia.

Es importante destacar que Instituciones de Salud Pública tales como el Hospital Regional 1° de Octubre así como el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, no registraron ningún caso de este tipo de micosis.

Análisis estadístico

Mediante un estudio retrospectivo de la Criptococosis en la Cd de México durante el periodo de 1990-1996, realizado en diferentes Instituciones de Salud Pública se determinó la prevalencia de esta enfermedad con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), el parámetro utilizado fue establecido dentro del rango natural para cualquier enfermedad.

Los datos obtenidos de las instituciones (Tabla 2), fueron sometidos a un análisis estadístico utilizando la prueba de hipótesis, planteándose en el caso 1:

1. $H_0 : p = 0.05$ (sólo un 0.05 de nuestra población presenta la relación criptococosis –HIV (+))

$H_1 : p \neq 0.05$ ($\neq 0.05$ de nuestra población presenta la relación criptococosis HIV (+))

2 Nivel de significancia de $\alpha = 5\%$

3. Rechazar H_0 si $Z \notin (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) = (-1.96, 1.96)$, en donde el valor de $\alpha/2$ fue calculado con 200gl, y un $\alpha 0.95$ bilateralmente ($\alpha/2$)

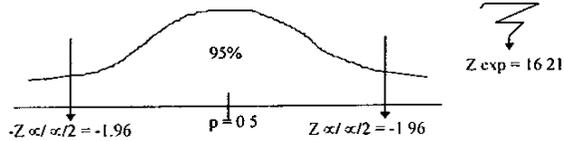
Acéptese en caso contrario.

4. Z experimental

$$z = \frac{\bar{p} - p}{\frac{\sigma_p}{\sqrt{n}}} = \frac{\bar{p} - p}{\sqrt{\frac{pq}{n}}} = \frac{0.736 - 0.05}{\sqrt{\frac{0.05(0.95)}{265}}} = 16.21$$

Fórmula 1

En este estudio se recuperaron 265 casos de criptococosis de los cuales, 195 fueron positivos al HIV en ambos sexos. La proporción correspondiente a esta relación 195/265 esto es igual 0.736, sustituyendo en la fórmula 1.



Como $Z_{exp} = 16.21 \notin (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) = (-1.96, 1.96)$

Se rechaza H_0 , es decir más del 5 % de la población tuvo HIV-criptococosis con un 95% de confianza.

Por lo que la incidencia es mayor significativamente en pacientes con SIDA.

En cuanto a la proporción de criptococosis relacionada al sexo, la cual es reportada (2:1) en la bibliografía, los resultados obtenidos para esta relación fueron sometidos también a un análisis estadístico, empleando la prueba de hipótesis para comprobar si es la misma proporción a la reportada ó existe alguna diferencia, planteándose:

1. $H_0 : p = 0.5$ (la relación criptococosis ligada al sexo es de 2:1 (2 hombres por 1 mujer))

$H_1 : p \neq 0.5$ (la relación criptococosis ligada al sexo es \neq 2:1)

2 Nivel de significancia de $\alpha = 5\%$

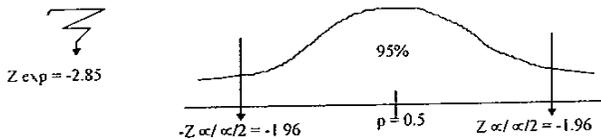
$(-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) = (-1.96, 1.96)$

3. Rechazar H_0 si $Z \notin (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2}) = (-1.96, 1.96)$

Acéptese en caso contrario.

$$Z_{\text{experimental}} = z = \frac{\bar{p} - p}{\sigma_p} = \frac{0.329 - 0.5}{\sqrt{\frac{0.5(0.5)}{70}}} = -2.85$$

En el caso de la criptococosis relacionada a otro tipo de inmunosupresión en ambos sexos la relación es 23/70, esto es igual a 0.329, sustituyendo en la fórmula 1.



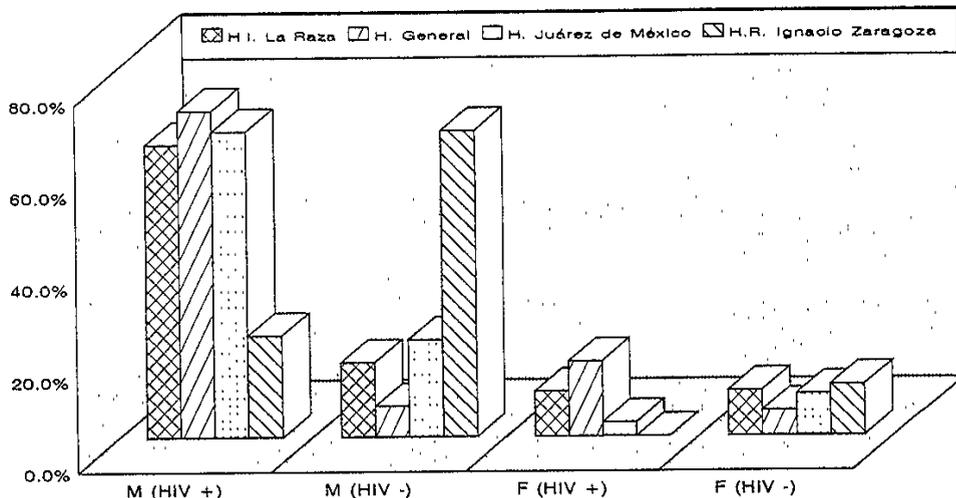
Como $Z \notin (-Z_{\alpha/2}, Z_{\alpha/2})$ se rechaza H_0 , es decir la relación de criptococosis ligada al sexo reportada no es 2:1 con el 95% de confianza, por lo que se establece que esta relación es mayor significativamente en el sexo masculino (4:1), con respecto al femenino.

RESULTADOS (Tabla)

Tabla N° 2
Resultados Globales del Estudio Retrospectivo de criptococosis en la Cd. de México
Periodo 1990-1996

Institución	Muestra	Masculino	Femenino	M-HIV(+)	F-HIV(+)	M-HIV(-)	F-HIV(-)	Cripto-Ciro tipo de inmunosu presión	% de casos HIV- Cripto en Instituciones	% total de casos en Instituciones	Casos
H. de Infectología La Raza	LCR	80.1 % 113	19.9 % 28	63.8 % 90	9.9 % 14	16.3 % 23	9.9 % 14	26.2 % 37	73.80 % 104	53.20 %	141
H. General de México	LCR	78.1 % 57	21.9 % 16	71.2 % 52	16.4 % 12	6.8 % 5	5.5 % 4	12.3 % 9	87.70 % 64	27.50 %	73
H. Juárez de México	LCR	87.9 % 29	12.1 % 4	66.7 % 22	3.0 % 1	21.2 % 7	9.1 % 3	30.3 % 10	69.70 % 23	12.50 %	33
H. Regional Ignacio Zaragoza	LCR	88.9 % 16	11.1 % 2	22.2 % 4	0 0	66.7 % 12	11.1 % 2	77.8 % 14	22.20 % 4	6.80 %	18
H. Regional 1° de Octubre	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	
Centro Med. Nal. 20 de Noviembre	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	-0-	
Total de Casos											265

Figura #5
 Porcentaje de Criptococosis relacionados
 al sexo y tipo de inmunosupresión
 durante 1990/1996



H.I. La Raza	63.8%	16.3%	9.9%	9.9%
H. General	71.2%	6.8%	16.4%	5.5%
H. Juárez de México	66.7%	21.2%	3.0%	9.1%
H.R. Ignacio Zaragoza	22.2%	66.7%	0.0%	11.1%

Fig. 5 En este gráfico se muestra la relación de criptococosis ligada al sexo.
 La mayor frecuencia se presenta en el sexo masculino con respecto al sexo femenino,
 independientemente del tipo de inmunosupresión.

Figura #6
 Porcentaje de casos de
 Criptococosis relacionados
 al sexo masculino

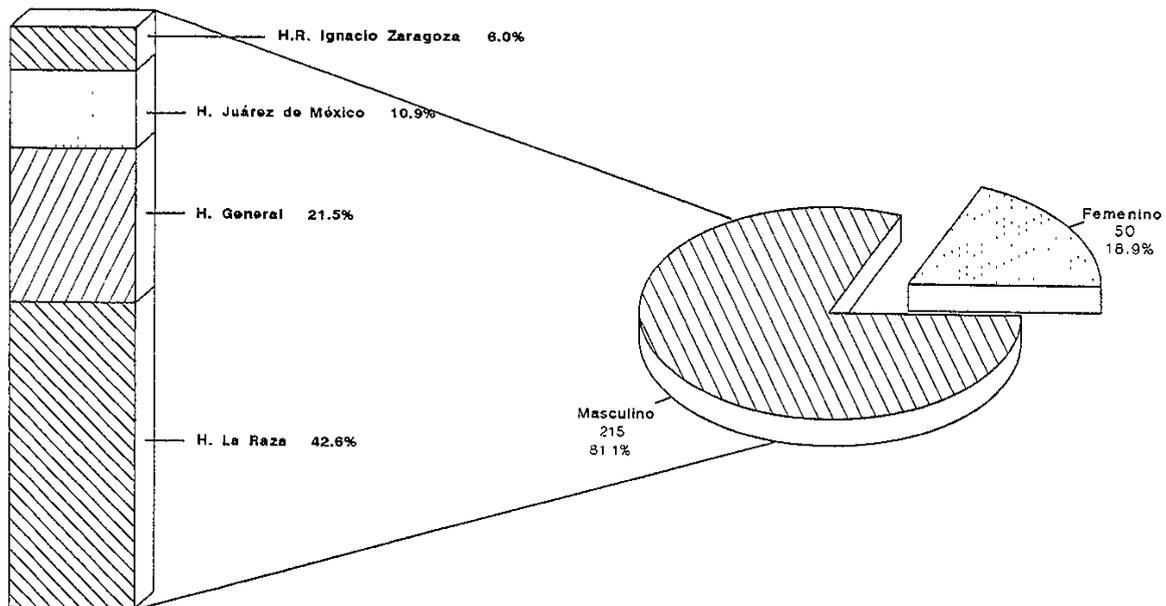


Fig.6 En esta figura se observa que la institución de salud pública que reportó un mayor número de casos de criptococosis relacionada al sexo masculino fue el Hospital de infectología del Centro de Médico 'La Raza', en contraste con el Hospital Regional Ignacio Zaragoza.

Figura #7
 Porcentaje de casos de
 Criptococosis relacionados
 al sexo femenino

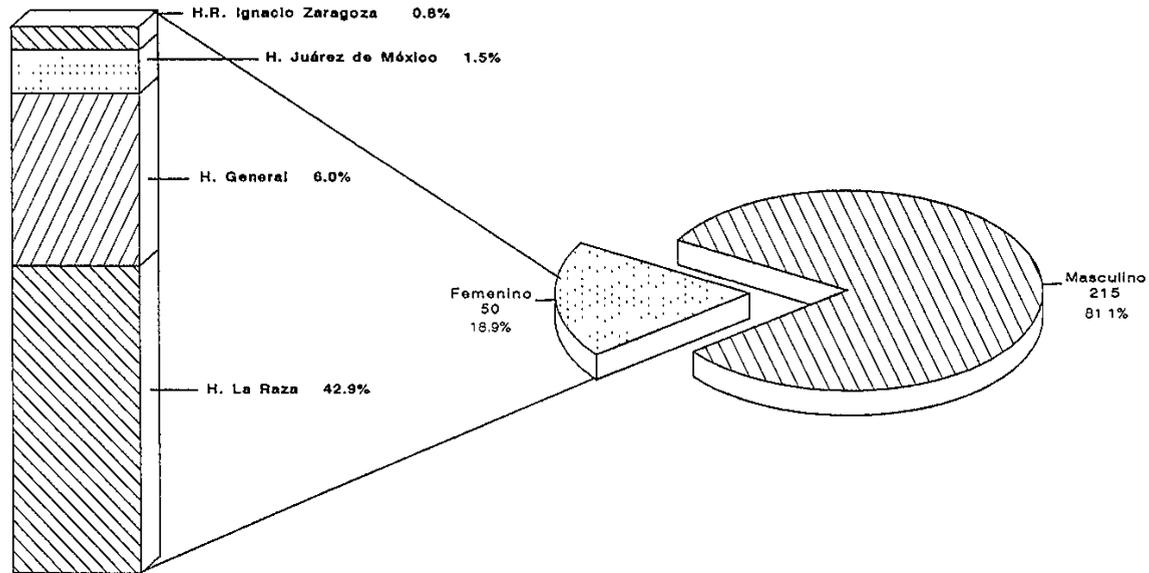
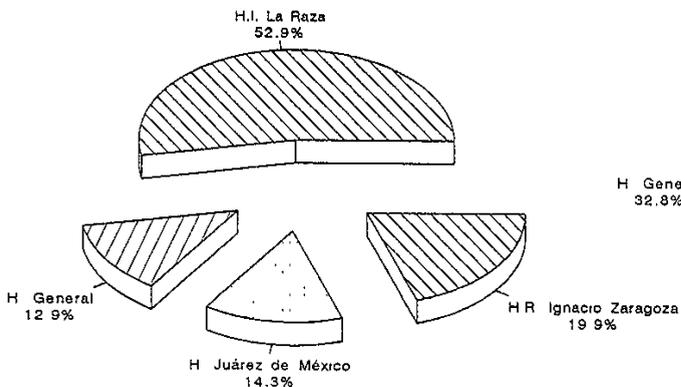


Fig 7 En esta figura se puede apreciar que la institución de salud pública que presentó un mayor número de casos de criptococosis ligada al sexo femenino fue el Hospital de infectología del Centro Médico Nacional "La Raza" en contraste al Hospital Regional Ignacio Zaragoza.

Figura #8
CRUPTOCOCOSIS
 en diferentes instituciones de la
 Cd. de México durante el periodo
 1990/1996

*Porcentajes del total de casos de
 criptococosis relacionados con otro
 tipo de Inmunosupresión*



*Porcentajes del total de casos de
 criptococosis relacionados al HIV +*

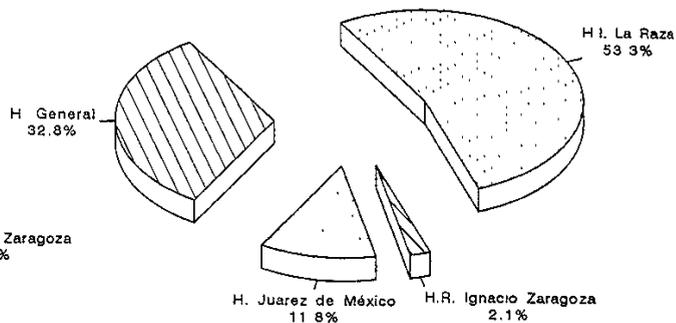


Fig.8 Aquí se representa el porcentaje de criptococosis por institución, así como el tipo de inmunosupresión. En ambos casos se captó el mayor número de pacientes con este padecimiento en el Hospital de Infectología del Centro Médico "La Raza".

Figura #9
Porcentaje Total de casos de
Cryptococosis en cada Institución
durante 1990/1996

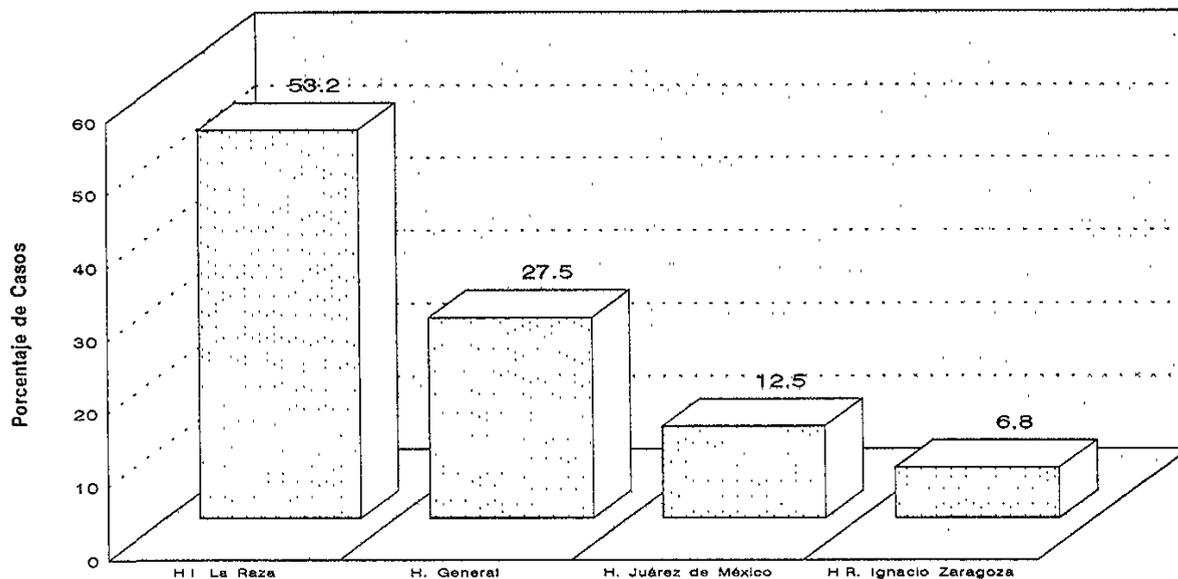


Fig.9 En esta figura se aprecia que la institución que reportó el mayor número de casos en el periodo de estudio, fue el Hospital de Infectología del Centro Médico "La Raza", esto comparado con el Hospital Regional Ignacio Zaragoza.

XII.- DISCUSIÓN

En México, el reporte de casos de este tipo de micosis relacionados con el SIDA fluctúa entre el 10 y 15%. De hecho se han realizado estudios en algunos países en donde se reportan casos relacionados a este padecimiento. Como es el caso de los Estados Unidos en donde ocurre en un 7 y 8% del total de pacientes son portadores del virus de inmunodeficiencia adquirida. Otros estudios realizados en distintos países de Europa revelan que la frecuencia de esta infección es menor, esto es, entre 3.2 y 5.8%; Inglaterra 3.2%, Francia entre 5.0 y 8.0%, Bélgica 5.4%, Alemania 5.8% (16-19).

Es importante destacar que los reportes en los países anteriormente citados no puedan ser relacionados con los obtenidos en este estudio debido a que no cumplen con los parámetros requeridos en el presente estudio entre estos se encuentran: el periodo de estudio es inferior al establecido, el tipo de muestra, número de casos reportados; número de instituciones en las cuales fue realizado, entre otros.

En la figura No 5, se muestra el porcentaje de Criptococosis obtenido de cada Institución durante el periodo de estudio, relacionándose tanto al HIV como al sexo. En donde es posible apreciar que la Institución que reporta un mayor número de pacientes masculinos relacionados al HIV (+) es el Hospital General de México con 52 casos (71.2%) marcándose una diferencia notable al ser comparado con el Hospital Regional Ignacio Zaragoza, el cual reportó 4 casos (22.2%). En lo que respecta a casos relacionados con otro tipo de Inmunosupresión para este mismo sexo, la Institución que reportó el mayor número de casos es el Hospital Regional Ignacio Zaragoza con 12 casos (66.7%), a diferencia del Hospital General de México con 5 casos reportados (6.8%).

Para el sexo femenino; la relación de este con el HIV (+), la Institución que reportó un mayor número de casos fue el Hospital General de México con 12 casos (16.4%), a diferencia del Hospital Juárez de México con un caso reportado (3.0%). En lo que refiere a otro tipo de inmunosupresión ligada a este sexo, es posible observar que el Hospital Ignacio Zaragoza presentó sólo dos casos (11.1%) a diferencia del Hospital General de México que reportó dos, esto es el 5.5%.

En la figura No. 6, es posible observar una diferencia considerable en la frecuencia de esta micosis en el sexo masculino con 215 casos (81.1%), con respecto al sexo femenino con 50 casos (18.9%), observándose que la Institución en la cual se reportaron un mayor número de casos de Criptococosis relacionados al sexo masculino fue el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional "La Raza" reportando 113 casos (42.6%), presentándose en esta misma Institución el mayor número de casos femeninos siendo 28 casos reportados (42.9%). Apreciándose esta relación en la figura No. 7.

En la figura No. 8, los porcentajes totales de casos de Criptococosis en las diferentes Instituciones durante el periodo estudiado; se observó que la Institución que presenta un mayor número de casos de Criptococosis no relacionados a HIV fueron los registrados en el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional "La Raza" con 37 casos (52.9%), pudiéndose apreciar una diferencia en el porcentaje para el Hospital General de México reportando solamente 9 casos (12.9%). En esta misma figura es posible notar los porcentajes totales de casos con Criptococosis relacionados al HIV (+), predominando esta afección en el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional "La Raza" registrando 104 casos (53.3%) en contraste con el Hospital Regional Ignacio Zaragoza el cual reportó 4 casos (2.1%). En la figura No. 9, se aprecia que la Institución que reportó un mayor porcentaje de Criptococosis durante el periodo de estudio fue el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional "La Raza"

con 141 casos (53.2%), a diferencia del Hospital Regional Ignacio Zaragoza con 18 casos reportados (6.8%), mostrando una diferencia de 7.8 veces menor a la reportada por el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional “La Raza”.

Con base en el estudio estadístico llevado a cabo, se comprobó que la relación que existe entre la Criptococosis relacionada al sexo no es de 2:1, como es reportada en la literatura; esto pudo ser comprobado mediante la aplicación de la prueba de hipótesis con un intervalo del 95% de confianza.

A lo referente a la prevalencia de la Criptococosis relacionada al SIDA, se demostró de igual manera una diferencia con un intervalo de confianza de 95 %; en donde se demostró que la población estudiada presentaba esta infección asociada al HIV.

En las instituciones en las cuales no fue registrado caso alguno, obedece a que no se contó con una buena implementación de técnicas micológicas ni con el personal capacitado para la realización de este diagnóstico, por lo que tenían que ser enviadas las muestras sospechosas (LCR) a otra Institución en este caso fue el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (INDRE), razón por la cual no se tuvo acceso a la información de los resultados finales. De aquí que es de suma importancia que las Instituciones de Salud Pública cuenten con personal capacitado para realizar las pruebas de rutina para el diagnóstico temprano de esta micosis. A lo anterior, hay que añadir que se descartaron instituciones que por sus características, los datos proporcionados no eran fiables para nuestro estudio.

XIII.- CONCLUSIONES

Cryptococcus neoformans es una levadura cosmopolita que afecta ocasionalmente a individuos con una respuesta inmune deficiente, sobretodo de tipo celular.

Con base en este estudio podemos concluir, que la criptococosis es relativamente frecuente en paciente con HIV, ya que nuestros datos revelaron una incidencia de 73.5% para esta relación y un 26.5% para la relación criptococosis ligada a otro tipo de inmunodeficiencia de un grupo de 265 personas, con respecto al sexo no es de 2:1 como es reportada en la literatura, dado que los resultados revelaron una relación de 4:1 predominando ésta en el sexo masculino. Lo anterior, debido al incremento de número de casos de HIV en los últimos cuatro años en nuestro país. Cabe señalar que en algunos reportes de esta asociación (criptococosis-HIV), mencionan que ésta es una de las primeras infecciones oportunistas en pacientes de HIV.

Durante la investigación realizada no fue posible determinar algunos parámetros importantes para la epidemiología como pudieron haber sido edad, raza y población de alto riesgo, debido a que las instituciones a las cuales se tuvo acceso no contaban con estos datos, los cuales resultan ser de suma importancia para determinar la relación que existe entre este tipo de micosis con los parámetros anteriormente citados.

Es importante resaltar que tanto en Instituciones de Salud Pública en la Ciudad de México como en las del interior de la República, sean implementadas técnicas de rutina para la identificación rápida de este tipo de levadura, a fin de brindar un diagnóstico y un tratamiento adecuado. El implante de este tipo de técnicas deberá ser realizado por personal capacitado, dado que resultan ser sencillas en su preparación

y montaje además de no ser costosas. Lo anterior, sugiere realizar este tipo de rutina a muestras de pacientes que presenten neuroinfecciones o sintomatología característica de esta infección.

El objetivo de proponer este tipo de pruebas de identificación en el interior de la República, radica en tratar de concentrar a pacientes con este tipo de infección en su lugar de origen con la finalidad de ubicar las posibles zonas epidemiológicas y así situar en nuestro país las posibles zonas endémicas para esta micosis a nivel mundial.

GLOSARIO

SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SNC	Sistema Nervioso Central
SSF	Solución Salina Fisiológica
LCR	Líquido Cefalorraquídeo
SDA	Sabouraud Dextrosa Agar
BHI	Agar Ingusión Cerebro Corazón
DOPA	3,4- Dihidroxifenilamina
GXM	Complejo Glucoroxilomanana
GalXM	Galactoxilomanana
MP	Monoproteínas
V-8	Agar de Verduras V-8
ARDC	Síndrome del Malestar Respiratorio del Adulto
TAC	Tamografía Axial Computarizada
YEPD	Agar Extracto de Levadura Glucosa y Peptona
CDB	Medio de Creatinina-Dextrosa-Azúl de Bromotimol
CGB	Medio de Canavanina-Glicina-Azúl de Bromotimol
PAS	Tinción de ácido periódico de Schiff
EIA	Inmunoensayos
PCR	Reacción en Cadena de la Polimeraza
AMF-B	Anfotericina B
HIV	Virus de la Inmunodeficiencia Adquirida Humana
5-Fc	5-Fluorocitosina
INDRE	Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Arenas, R., *Micología Médica Ilustrada Clínica, laboratorio y terapeutica* Nueva Editorial Interamericana, S. A. de C.V. México D. F., 1993. 235-40.
- 2 Kabat and Maye's, *Experimental Immunochemistry*. Ed. Charles C Thomas Published. U.S.A. ed. 2da. 1971. 113-17
- 3 Howord Dextex, H., *Fungi Pathogenic for Humans and Animal*. Ed. Marcell Dekken, Inc. U.S.A, 1993. 105-13
- 4 Hernández Gómez, Ma. Ruth, *Biotipificación de Cepas de Filobasidiella Cryptococcus neoformans y gattii aislados partir de casos clínicos humanos*. Tesis Lic. Q.F.B. FESC UNAM. 1988
- 5 Millán Cureño, Ma. Luisa, *Desarrollo de la Técnica de Aglutinación en látex para la detección de Antígeno capsular de Cryptococcus neoformans*. Tesis Lic. Q.F.B. FESC UNAM 1994
- 6 Know-Chun, Bennett J.K., *Medical Mycology* Lea & Fabiger, U.S.A 1992. 397-382.
- 7 Rippon W, J., *Micología Médica*, Saunders Company U.S.A. 1990. 629-39.
- 8 Merchant, Pacicer, *Bacteriología y virología veterinaria*. Ed Acribia. ed 3a. 573.
- 9 Ellis, H.D., *Clinical Mycology The Human Opportunistic Mycoses*. Ed. Sponso Med by an Education Grant From & Fizeri 1994. 40-7.
- 10 Ellis, D. y Pfeiffer, H., *Natural Habitat of Cryptococcus neoformans var gattii*. *J. Clin. Microbiol*, 1990, 28 (7), 1642-1644.
- 11 Murray, P. Patrick, Drew Lawrence, W. Kebayashi, S. Thompson H., *Microbiología Médica*. Ed. Times Mirror de España S.A. Barcelona España. 1993. 337-39
- 12 Avanero Licera, .B., Garza Garza, D, Trujillo González, A., *Laboratorio de Micología*. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN. 4ta. Ed. 1989. 74-6
- 13 Lazera S, Wanke, B. y Nishikawa, M., *Isolation of both varieties of Cryptococcus neoformans from saprophytic sources in the city of Rio de Janeiro, Brazil*. *J of Medical and Veterinary Mycology* 1993, 21, 449-454.
- 14 Lazcano, O., Speight, V.O., *Combined FONTANA-Mucin staining of Cryptococcus neoformans* *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 1991 115 (11), 1146-49
- 15 Clark, A., Greer, Donald, Atkinson, William, Vanainis y Newton, Hyslod., *Spectrum of Cryptococcus neoformans infection in 68 patients infected with human immunodeficiency virus*. *Rev of Int. Diseases* 1990 12 (5), 1990 768-777

16. Clumeck, N., et.al., *Acquired Immunodeficiency Syndrome in African patients* N. Engl. J. Med. 1984. 310, 492-97.
17. Kovacs, J. A., et.al., *Cryptococcosis in the Acquired Immunodeficiency Syndrome*. Ann Intern Med. 1985. 103, 533-38.
18. Zuger Alovie, E., Roberts Holzaman, M., Michael S, Simberkoff y James. J. Ranal, M. *Cryptococcal disease in patients with the Acquired Immunodeficiency*. Annals of Internal Medicine. 1986. 104, 234-40.
19. Weinke, T. H., Pohle, H. D., *Criptococosis and AIDS* The Lancet. 1988. 2, 221.
20. Rinaldi, G. M., Drute, J. D. Howel, A. Sande, C., Wofsy, B., Keith Hadley, *Serotypes of Cryptococcus neoformans in patients with AIDS*. The Journal of Infectious Diseases. 1986. 153(3), 642
21. Dromer, F., Ranin.O. and Dupont, *Isolation of Cryptococcus neoformans var gattii from an Asian patients in France, evidence for dormant infection in healthy subjects* J. of Medical and Veterinary Micology. 1992, 30, 395-97.
22. Pfeiffer, T. y Ellis, D., *Enviromental Isolation of Cryptococcus neoformans var gattii from California*. The Journal of Infectious Diseases. 1991. 163, 929-30.
23. Clancy N., M., Fleiscaumann, D.H., et.al. *Isolation of Cryptococcus neoformans var gattii from a patient with AIDS in Southern California* The Journal of Infectious Diseases. 1990. 161, 809.
24. Speed, R. B., Strawbridge, L. Ellis, H. D. *Cryptococcus neoformans var gattii meningitis in an Australian patient with AIDS* J of Medical and Veterinary Mycology. 1993 31, 395-99.
25. Levit M., Stuart. *The ecology of Cryptococcus neoformans and the Epidemiology of Cryptococosis*. Rev of Infectious Diseases. 1991, 13, 1163-69.
26. Bonifaz, A., *Micología Médica* Ed Méndez Cervantes. 1990 305-16
27. Ellis, H. y Pfeiffer, J., *Ecology, Life Cicle, and Infections Propagule of Cryptococcus neoformans*. Lancet. 1990. 336, 923-25.
28. Kwon-Chung, Wickes, Stockmag, Roberts, Ellis y Howard, *Virulence, Serotype, and Molecular Characteristics of Environmental Strains of Cryptococcus neoformans var gattii*. Infection and Immunity. 1992, 60 1869-74
29. Rendon, R. M., *Aislamiento de Cryptococcus neoformans a partir de excretas de paloma y gallina*. Tesis Lic. Q.F.B FESC UNAM. 1986.
30. Litter, Manuel, Suzan Leobol y Spratto G., *Manual de farmacología* Ed. Limusa, S.A. de C.V , México. D.F 1994, 1638

31. Casadevall, A., Mukherjee, J., Devi, S.J.N., et. al., *Antibodies elicited by a f Cryptococcus neoformans Tetanus - toxoid conjugate, vaccine have the same specificity as those elicited in infection.* *J. infect Dis.* 1992. 165:1086-93.
32. Meduri, Stein, *Pulmonary Manifestations of Acquired Immunodeficiency Syndrome.* *Clinical Infect.Diseases*, 1992. 14(1), 98-113.
33. Mandel, Douglas, Bennett's, *Principles and Practice of Infectious Diseases.* Churchill-Livingstone Inc.USA. Fourth edition. 1995 2331-40.
34. Quentinn, Myrvik, Russell, et al., *Bacteriología y Micología Médica* Ed Interamericana Gram-Hill. Segunda edición 1992. 628-35.
35. Koneman, E. W., *Diagnóstico Microbiológico.* 3ª de Ed Médica Panamericana, México.D.F. 1991. 704-17
36. Kyung, J. Kwon-Chung, *Improved Diagnostic Medium from Separation of Cryptococcus neoformans var neoformans (serotypes A and D) and Cryptococcus neoformans var gattii (serotypes B and C).* *Journal of Clin Microbiology* Marzo de 1982. 15(3), 535-537.
37. Rozenbaum, R., Rios Goncalves. *Clinical Epidemiology Study of 171 cases of Cryptococcosis.**Clin.Infect.Dis.* 1994. 18; 369-80.
38. Murphy; J.W. Mosley; R.L. et.al. *Regulation of cell mediated immunity in criptococosis II. Characterization of firis order T suppressor cells (Ts1) and induction of second order supressor cells.* *Immunology.* 1983. 130, 2876-81.
39. Jacobson, E., Ayers, J., Harrell, C., et.al. *Genetic and Phenotypic Characterization of Capsule Mutans of Cryptococcus neoformans.* *Journal of Bacteriology* Junio de 1982. (5). 1292-96.
40. James, G.P., Cherniak, R. *Galactoxylomannans of Cryptococcus neoformans* *Infection and Immunity.* Marzo de 1992. . 60, 1084-88
41. Bhattacharjee A.K., Bennett J.E., Gaudemans, *Capsular polysaccharides of Cryptococcus neoformans.* *Rev. Infect Dis* 1984. 6, 619-24.
42. Cherniak, R. Reiss, E.; Turner, H., *A Galactoxilomannan Antigen of Cryptococcus neoformans serotype A.* *Charbohydrate Research.* 1982 103(1), 239-250.
43. Todoru, L., Errol, R. Cherniak, R., et.al., *Characterization of Cryptococcus neoformans Capsular glucorono xilomannan polysaccharide with monoclonal antibodies.* *Infections and Immunity.* 1989. 57 (12), 3882-87.
44. Smith, J.M., *Oportunistic Mycoses of man and other animals* CBA.U K. 1989, 106-9.
45. Salkin, F., Hurd, J., *New medium for Differentiation of Cryptococcus neoformans serotype pairs* *J. Clin. Microbiol.* Enero de 1982. 15(1), 169-71

46. Fromtling, Shadomy, S., Shamody, J., et.al., *Serotype B/C Cryptococcus neoformans Isolated from patients in noendemic areas.* J.Clin.Microbiol. Agosto de 1982. 16(1), 408-10
47. Dufait, R., Velbo, R., Uruey, C., *Rapid Identification of the two varieties of Cryptococcus neoformans by D-proline Assimilation.* Mykosen. 1987. 30(101), 483
48. Kwon-Chung, K.L., Wickens, B.L. et al., *Urease Inhibition by EDTA in two varieties of Cryptococcus neoformans Infection and Immunity* 1987. 55 1751-54.
49. Cameron, M.L., Bartteff, J.A, Gallis, A., et.al., *Manifestations of pulmonary cryptococcosis in patients with acquired immunodeficiency syndrome,* Rev. Infect Dis. 1991. 13, 64-7.
50. Concles, D., Vix, V., Tarver, R., *Pleural Cryptococcosis,* J.Thorac.Imaging. 1990. 5, 84-6.
51. Lawrence, D., *Bronchiolitis Obliterans-Organizing Pneumonia Associated with Cryptococcus neoformans Infection.* Reviews of Infectious Diseases. 1991. 13, 1254-59
52. Ziomek, Weinstein, Margulies, Braun., *Primary pulmonary Cryptococcosis Presenting as a Superior sulcus tumor* Ann Thora Surg. 1992. 53, 892-3.
53. Li-Na Lee, Pan-Chyr Yang, Sow-Hsong., *Diagnosis of pulmonary Cryptococcosis by ultrasound guided percutaneous aspiration.* Thorax. 1993 48, 75-8.
54. Negroni, R., Arechavala, D., Robles, A., et.al., *Revisión Clínica y Evolución Terapéutica de Pacientes con Cryptococcosis Asociada al SIDA.* Revista Iberoamericana de Micología. 1995. 12:12-5.
55. Jimenez Mejias, M. E., Fernández, A., Alfaro, E., *Cryptococcosis of the central nervios system clinical features an diagnosis.* Medicina Clínica Barcelona. . 97(16), 604-8.
56. Aslanzadeh, J., Mormal, J. S., Little, J. R., *Anticryptococcal activity of Amphotericin B-stimulated macrophages* Immunopharmacology and Immunotoxicology. 1991. 13(4), 485-3.
57. Hernández, A. D., *Cutaneous Cryptococcosis.* Dermatol. Clin. 1989. 7(169), 274.
58. Ennio, R., Manfredi, Scarani, M., et.al., *Cutaneous Cryptococcosis and AIDS.* J.of The American Academy of Dermatology. Agosto de 1991. 25(2) part I.
59. Behrman, E., Masci, R., *Cryptococcal Skeletal Infections Case Report and Review.* Reviews of Infectious Diseases. 1990. 12(2), 181-90
60. Matsushita, T., Suzuki., *Spastic paraparesis due to Cryptococcal Osteomyelitis.* Clin. Ortop. 1985. 186, 279-84
61. Hiss P. W., Shields J.A., Augshurger J., *Solitary Retinovitreal abscesos As the Ophthalmology.* 1988. 25, 162-165.

62. Sebulman, J.A., et.al. *Fatal disseminated Cryptococcosis following intraocular involvement.* J. Ophthalmol. 1988. 22, 171-175.
63. Perry H. D., Donnenfeld E.D. *Cryptococcal Keratitis after Keratoplasty.* J. Ophthalmol. 1990 110, 320-21.
64. Lynch D.P., Naftolin L.Z., *Oral Cryptococcus neoformans infection in AIDS* Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. 1987. 64, 449-53.
65. Daly J. S., *Disseminated nonmeningeal gastrointestinal Cryptococcal infection in an HIV-Neg patient* Am. J. Gastroenterol. 1990 85, 1421-24.
66. Staid, F., Seibold, M., Age M., *Persistence of Cryptococcus neoformans in seminal fluid and urine under Itraconazole treatment the urogenital tract (prostate) as a niche for Cryptococcus neoformans.* Mycoses. 1990. 33(7-8), 369-73.
67. Denning, D., Armstrong, R., Fishman, M., et.al., *Endophthalmitis in a Patient with Disseminated Cryptococcosis and AIDS who was Treated with Itraconazole.* Reviews of Infectious Diseases. 1991. 13 1126-30.
68. Medoff, G., Kpbayashi, G.S., *Systemic fungal infectious.* An. Hospital Practice. 1991. 26(2), 41-52.
69. Denning, W., Stevens, A., *Comparison of Guzotia abyssinica seed Extract (birdseed) Agar with Conventional Media for Selective Identification of Cryptococcus neoformans in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome.* J.Clin.Microbiol. November 1990 28, 2565-67.
70. Hopfer L., Roy, Dieter Gröschel, *Six-hour pigmentation test for the identification of Cryptococcus neoformans.* J. Clin. Microbiol. Agosto de 1975. 2, 96-8.
71. Mc. Fladdin, *Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica* Ed. Médica Panamericana. 1990.
72. Zimmer, L.B., Glenn D. R., *Rapid Selective test for presumptive identification of Cryptococcus neoformans* Journal of Clinical Microbiology. 1979. 10. 380-81.
73. Ruane, P.J. Walter, L.J., George, W. L., *Disseminated infection caused by urease-negative Cryptococcus neoformans* J. clin. Microbiol. 1988. 26, 2224-25.
74. Bava A.J., Negroni, R., Bianchi, M., *Cryptococcosis produced by a urease negative strain of Cryptococcus neoformans* J. Med. Vet. Mycol. 1993. 31, 87-9.
75. Tien R.D., Chu P.K., Hesselink J.R., *Intracranial Cryptococcosis in immunocompromised patients. CT and MR* American Journal of Roentgenology. 1991. 156(6), 1245-51
76. Pérez, M.J., Rodríguez, S.C., Miranda, M.R., *Procedimientos de Laboratorio para Bacteriología y Micología Veterinaria* UNAM Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 1987

77. Willian, Kaplan, *Serotyping Cryptococcus neoformans by Immunofluorescence*. *Journal of Clinical Microbiology*. Septiembre de 1981. 19(3), 313-17
78. Bottane, *Cryptococcus neoformans: Giemsa stained characteristic that facilitate detection* *Laboratory-Medicine*. 1981. 23(2), 120-21.
79. Kwon-Chung, K.J., Hill, W.B., Bennett, J.E., *New special stain for Histopathological Diagnosis of Cryptococcosis* *J. Clin. Microbiol.* 1981. 13, 383-87
80. Ro, J.Y; Lee, S.S., Ayala, A.G., *Advantage of Fontana-Masson stain in capsule deficient Cryptococcal infection* *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1987. 111, 53-7
81. Jensen, Rose, Hammer, Kaschner, *Serologic Diagnosis of focal pneumonia caused by Cryptococcus neoformans* *Am. Rev. Respir. Dis.* 1985. 132, 189-91.
82. Hamilton, Noble, Dennig W.D., Stevens A.D., *Performance of Cryptococcus Antigen Latex Agglutination Kits on Serum and Cerebrospinal Fluid Specimens of AIDS before and after Pronase Treatment*. *Journal of Clinical Microbiology*. 1991. 29, 333-39.
83. Kohno, S., Yasuoka, A., Koga, H., Karu, M., *High detection rates of Cryptococcal Antigen in Pulmonary Cryptococcosis by eiken latex agglutination test with Pronase treatment* *Micopathology* 1993 123(2), 75-9
84. Heelan, J., Corpus, L., Kessimian, N., *False positive Reactions in the Latex Agglutination Test for Cryptococcus neoformans Antigen*. *J. Clin. Microbiol.* 1991. 29, 1260-61.
85. Edward J., Mc. Manus, *Trichosporon beigeli Antigen Cross-Reactive with Cryptococcus neoformans Capsular Polysaccharide in Serum from a Patient with Disseminated Trichosporon Infection*. *J. Clin. Microbiol.* 1985. 21(5), 681-85.
86. Gade Wayne, Suzanne W. Hinnefield, Babcock, L., *Comparison of the PREMIER Cryptococcal Antigen Enzyme Immunoassay and the Latex Agglutination Assay for Detection of Cryptococcal Antigens* *J. Clin. Microbiol.* 1991. 29, 1616-19.
87. Eckert, T.F., Kozel, R.T., *Production and characterization of Monoclonal antibodies specific for Cryptococcus neoformans capsular polysaccharide*. *Infect. Immun.* 1987 55, 1895-99.
88. Uwe, K. Nishimura, L., Karlyn, S., *Evaluation of an Enzyme immunoassay for detecton of Cryptococcal Capsular Polysaccharide Antigen in Serum an Cerebrospinal fluid* *J. Clin . Microbiol.* 1993. 31, 92-101.
89. Polacheck, I., Lebens, G., Hicks, J.B., *Development of DNA probes for Early Diagnosis and Epidemiological Study of Cryptococcosis in AIDS patients*. *J. Clinil. Microbiol.* 1992. 30, 925-30
90. Youmans, G.P., Paterson, P.Y., Sommers, H.M., *Infectología clinica*. 1984. Segunda Edición Interamericana. 486.
91. Lentneck, A. Sander, A., Whitle Y.R., Mc. Cracken, H., Seheld M., *Evaluation of new Anti-Infective Drugs for the Treatment of Cryptococcal meningitis*. *Clin. Infect. Dis.* 1992 15 Suppl1, 189-94.

- 92 Bennett, J. E., et.al., *A Comparison of Amphotericin B alone and Combine with Flucytosine in the tratamient of Cryptococcal Meningitis* N. Engl. J. Med. 1989. 301, 126-31.
- 93 Drouhet E., Dupont B., *Evolution of antifungal agents Past. Present and Future* Rev. Infect. Dis. 1987. 9(Suppl 1) ,4-14.
- 94 Sugar, A. M., *Overview Treatment of Cryptococcal meningitis*. Rev. Infect. Dis. 1990. 12 (Suppl) ,338-48.
- 95 Yamamoto R., Tominaga, *Successful treatment of Cryptococcosis by Combination therapy of Miconazole and Flucytosine (5-FC)* Japanese Journal of Medical Micology. 1992. 33(1), 29-35.
- 96 Garaybill, J.R., Rinaldi, M.G., *Treatment of murine Cryptococcal meningitis with an SCH 39304 - Amphotericin B combination*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1991 35(9), 1721-25.
- 97 De-Gans, J., Van-Boxtel, C.J., Van-Ketal, R.J., *Itraconazole Compared with Amphotericin B Plus Flucytosine in AIDS Patients with Cryptococcal meningitis* AIDS. 1992. 6(2), 185-89
- 98 Morris, B. Chan, Y.G., Reddy J., *Cryptococcal Peritonitis in a CAPD Patient*. J. Med. Vet. Mycol. 1992. . 30(4), 309-15.
- 99 Larsen, A.R., Leal, E., Chan, L., *Fluconazole Compared with Anphotericin B Plus Flucytosine for the treatment of Cryptococcus neoformans* Ann. Intern. Med. 1990. 113 , 183-87.
- 100 Coker, R. J., Beh, D., *Cavitating Pulmonary Patient Despite prior treatment with Fluconazole*. Genitourinary-Medicine. 1992. 68(1), 42-44.
- 101 Berry, A.J., Rinaldi, M.G., *Use of High-dose Fluconazole as salvage therapy for Cryptococcal meningitis in patients with AIDS* Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1992. 36(3), 690-92.
- 102 Nightingale, S.D., Peterson, D. M., *Primary Prophylaxis with Fluconazole against Systemic Fungal infections in HIV-Positive patients*. AIDS. 1992. 6(2), 191-94.
- 103 Haglund, L.A., Greenfield, R.A., *Rapid Relapse of Cryptococcal meningitis after termination of maintenance Fluconazole in AIDS*. American. Journal of Medicine. 1992. 92(4), 449-50.
- 104 Adler-Moore, J.P., Chiang, S.M., Satorius, A., *Treatment of murine Candhdosis and Cryptococcosis with unicamellar Liposomal Amphotericin B formulation (AMBISOME)* Journal of Antimicrobial-Chemotherapy. 1991. 28 (Suppl B). 63-71.
- 105 Coker, R.J., Murphy, S.M., Harris, J.W., *Experience with Liposomal Amphotericin B (Ambisome) in Cryptococcal in AIDS* Journal of Antimicrobial-Chemotherapy. 1991. 28 (Suppl B), 105-09.
- 106 Shurmann, D., Marques, B.M., *Safety an Efficacy of Liposomal Amphotericin B in treating AIDS Associated dsseminated Cryptococcosis*. Journal of Infectious Diseases. 1991. 164(3). 620-22

- 107 Gilbert, R.E., Wyde, P.R., Wilson, S., *Aerosolised Liposomal Amphotericin B for Treatment of pulmonary and systemic Cryptococcus neoformans infectious in mice* *Antimicrobial-agents- and Chemotherapy*. 1992. 36(7), 1466-1471.
108. Coker, R.J., Viviani, M., Gazzard, B.G., *Treatment of Cryptococcosis with Liposomal Amphotericin B (Ambisome) in 23 patients with AIDS*. *AIDS*. 1993. 7(6), 829-835.
109. Bonifaz, T.A.; Flores, R. Ma P., Araiza., *Criptococcosis y su diagnóstico de Laboratorio*. *Lab-acta*. 1996 8 (2), 37-43.
- 110 Froomtling, R.A., Shadomy, H. J., *An overview of microphage fungal interaction*. *Micopatology*. 1986. 23, 77-93.
111. Graybill, R. J. Hague, M. *Passive Immunization in Murine cryptococcosis* *Sabourandia*, 1981. 19, 237-44
112. Hidore, R.M., Murphy, W.J. *Murine Natural Killer Cell Interaction with a fungal target, Cryptococcus neoformans* *Infection and Immunity*. 1989. 57(7), 1990-97.
113. Morgan, A. M. Blackstock, A.R. *Modification of Macrophage phagocytosis in murine cryptococcosis*. *Infection and Immunity*. 1983. 40(2), 493-500.
- 114 Murphy, J.W. Mosley, R. L. *Regulation of cell mediated immunity in cryptococcosis III Characterization of second order T suppressor cells (Ts2)*. *J. Immunology* . 1985. 134, 577-84.
- 115 Diamond, D.R. *Immune response to fungal infection*. *Reviews of Infectious*. 1989 7(5), 1600-03
116. Miller, G.P.G., Puck. J. *In vitro human lymphocyte responses to Cryptococcus neoformans Evidence for primary and secondary responses in normal and infected subjects*. *J. Immunology*. 1989. 133, 166-72.
117. Murphy, J.W. Mosley, R.L et al. *Serological electrophoretic, and biological properties of Cryptococcus neoformans antigens* . *Infect Immun*. 1988. 56 424-31.
- 118 Mosley, R.L, Murphy, J.W. *Immunoabsorption of Cryptococcus specific suppressor T-cell factors*. *Infect. Immun*. 1986. 51, 844-50.
119. Khakpour, F.R; Murphy, J.M. *Characterization of a third orden suppressor T cell (Ts3) induced by cryptococcal antigens*. *Infect Immun*. 1987, 55 1657-62.
- 120 Blackstock; R, Mc Cormack; J.M; Hall; N.K. *Induction of a macrophage-suppressive by soluble cryptococcal antigens and its association with models of immunologic tolerance* *Infect Immun*. 1987. 55, 233-9