

302927

1
2ej
BIBLIOTECA
MEXICO
MAY 30 1986

UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO



**ASPECTOS MICOLOGICOS E INMUNOLOGICOS
DE LA CRIPTOCOCOSIS**

TRABAJO MONOGRAFICO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
MARTHA ELENA BAÑOS TAPIA

ASESOR: ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO

MEXICO, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1986



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 está 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.

GENERALIDADES

1.1)	DEFINICION.....	5
1.2)	ANTECEDENTES HISTORICOS.....	6
1.3)	SINONIMOS DE LA ENFERMEDAD.....	8
1.4)	ETIOLOGIA.....	9
1.4.1)	Sinonimia.....	9
1.4.2)	Clasificación.....	9
1.4.3)	Morfología.....	11
1.4.4)	Estructura antigénica.....	12
1.4.5)	Fisiología.....	14
1.5)	FACTORES QUE FAVORECEN A LA CRIPTOCOCOSIS.....	16
1.6)	EPIDEMIOLOGIA.....	22
1.7)	TIPOS CLINICOS.....	24
1.7.1)	Criptococosis pulmonar.....	24
1.7.2)	Criptococosis meníngea.....	25
1.7.3)	Criptococosis cutánea.....	28
1.7.4)	Criptococosis ósea.....	29
1.7.5)	Criptococosis diseminadas.....	30
1.8)	DIAGNOSTICO.....	33
1.8.1)	Examen directo.....	33
1.8.2)	Cultivos.....	36

1.8.3) Biopsia.....	39
1.8.4) Rayos X.....	43
1.8.5) Pruebas inmunológicas.....	44
1.8.6) Inoculaciones a animales.....	52
1.9) TRATAMIENTO.....	55
1.9.1) Anfotericina B.....	55
1.9.2) 5-Fluorocitosina.....	61
1.9.3) Anfotericina B + 5-Fluorocitosina.....	63
1.9.4) Imidazoles.....	64
1.9.5) Técnicas quirúrgicas.....	67

INTRODUCCION

La criptococosis es una enfermedad causada por un hongo oportunista, ubicuo que se adquiere del suelo contaminado -- con excremento de palomas pudiendo afectar pulmones, piel u otras partes del cuerpo, pero con predilección manifiesta -- por el cerebro y las meninges.

La incidencia más alta de esta micosis corresponde a -- Australia y Estados Unidos; en este último se reportan unos 390 casos de meningitis anuales, de los cuales mueren la --- cuarta parte de los pacientes que la padecen, y aunque no se sabe el número de personas que enferman al año ya que la infección primaria suele cursar en forma asintomática, se observa una alta mortalidad, principalmente en casos meníngeos. En México también se le ha encontrado con relativa frecuencia pero se tienen datos muy incompletos debido al escaso desarrollo de la Micología Médica.(106).

El hecho de que Cryptococcus neoformans sea un hongo oportunista y la continua presencia de enfermedades que alteran el estado inmunológico de los pacientes, ha incrementado el número de personas que contraen criptococosis. Estas en--

fermedades incluyen; linfomas, diabetes, enfermedad de Hodgkin, lupus eritematoso sistémico, leucemias, sarcoidosis, hepatitis, SIDA e histoplasmosis entre otras.

Aunado a esto, la terapia inmunosupresora con esteroides, antibióticos de amplio espectro y agentes quimioterápicos utilizados en el control de padecimientos neoplásicos, ha aumentado el número de pacientes que finalmente mueren afectados por C. neoformas u otros hongos.

La frecuencia en cuanto a concomitancia de criptococosis con estos padecimientos, crea una sintomatología además de variada, sumamente extraña.

Es de trascendental importancia el diagnóstico precoz del agente infeccioso, ya que los resultados son fatales si no se detecta a tiempo la presencia del microorganismo.

El diagnóstico micológico de la criptococosis se efectúa en base a la identificación del hongo por medio de exámenes directos, cultivos e inoculaciones a animales. Como un apoyo, en la última década se han ensayado varias pruebas inmunológicas como anticuerpos fluorescentes, ensayos de hemaglutinación, el uso de partículas de látex sensibilizadas e inmunoensayos ligados a enzimas. Valiéndose de estas pruebas, se muestra no sólo su valor como ayuda diagnóstica, si-

no también como ayuda pronóstica.

En lo que se refiere al tratamiento, se encuentran algunos medicamentos que han dado resultados excelentes cuando el diagnóstico se ha obtenido a tiempo.

La finalidad de este trabajo es la recopilación de toda la bibliografía posible referente a la criptococosis, para contar con una fuente de información acerca de las formas de infección, tipos clínicos, tratamiento y, principalmente, métodos de diagnóstico tanto inmunológicos como micológicos.

OBJETIVOS

- 1.- Describir las formas de infección y los principales factores que favorecen a la criptococosis.
- 2.- Describir la importancia de la criptococosis como una enfermedad oportunista.
- 3.- Mostrar las características de las formas clínicas para su correcta diferenciación con otras enfermedades.
- 4.- Describir los diferentes métodos de diagnóstico tanto micológicos como inmunológicos comparándolos de acuerdo con sus ventajas y desventajas en la detección de Cryptococcus neoformans.

1.1. DEFINICION.

La Criptococosis es una infección subaguda o crónica -- causada por Cryptococcus neoformans, que puede afectar los pulmones, piel u otras partes del cuerpo, pero con predilección manifiesta por el Sistema Nervioso Central (22, 92, --- 107, 111).

Esta enfermedad se designa con el nombre de blastomicosis debido a que es producida por un hongo levaduriforme, oportunista, ubicuo (15, 22, 92, 96).

Se presenta como una entidad de curso variable, de baja morbilidad y alta mortalidad, ocurriendo por lo general en - pacientes con enfermedades inmunosupresoras o por terapias - con agentes químicos y en especial esteroides (22, 92, 96, - 106, 111).

1.2. ANTECEDENTES HISTORICOS.

En 1894 el micólogo Italiano F. Sanfelice, aisló del jugo de peras una levadura capsulada a la que llamó Saccharomyces neoformans y con la cual produjo lesiones en animales infectados experimentalmente. Al mismo tiempo, en Alemania, -- los médicos Busse y Buschke reportaron el aislamiento del -- mismo hongo en una lesión sarcomatosa (22, 92, 107, 111). Un año más tarde, en Francia, F. Curtis aisló una levadura de un tumor edematoso en la cadera de un paciente, este hongo -- se demostró patógeno experimentalmente y se propuso la denominación de Saccharomyces subcutaneus tumefaciens (15, 92).

En 1901, Vuillemin estudió la morfología y características de la cepa, comprobando la ausencia de ascosporas prueba que identifica al género Saccharomyces, por lo tanto se le -- clasificó a estas células levaduriformes (anascosporadas)-- con el nombre de Cryptococcus hominis (15, 22, 92).

En los Estados Unidos, en 1935, se hace una recopilación de todos los casos de criptocosis estudiados hasta esa época y se comprueba que todas las cepas, incluyendo las de Busse y Buschke, Curtis, Stoddars y Cluter, presentaron características iguales (15, 92).

Los términos de *Torula* y *Torulosis* tuvieron mucho éxito siendo empleados corrientemente, pero el nombre que corresponde más adecuadamente según la taxonomía es el de *Cryptococcus neoformans*, propuesto por Lodder y Kreger-Van-Rij en -- 1952 (15, 22, 92, 111).

1.3. SINONIMOS DE LA ENFERMEDAD.

A la criptococosis suele llamársele con el nombre de -
Elastomicosis Europea, ésto se debe a que fué hallada por --
primera vez en aquel continente; también se le conoce como -
Torulosis, Enfermedad de Busse y Buschke, Enfermedad insigne -
y Amenaza gigante (15, 22, 52, 92, 96, 106, 107, 111).

1.4. ETIOLOGIA.

1.4.1. SINONIMIA.

Los nombres con que se ha mencionado a C. neoformans --
son:

a) <u>Saccharomyces neoformans</u>	Sanfelice	1894
b) <u>Cryptococcus hominis</u>	Vuillemin.	1901
c) <u>Torula neoformans</u>	Weis	1902
d) <u>Saccharomyces subcutaneus</u> <u>tumefaciens</u>	F. Curtis	1902
e) <u>Torula histolytica</u>	Stoddars y Gluter	1916
f) <u>Debaromyces hominis</u>	Tood y Hernan	1936

1.4.2. CLASIFICACION.

El agente etiológico de la criptococosis es una levadura monogemante, capsulada, denominada C. neoformans, a la -- que se clasifica dentro de la clase de los Deuteromycetes -- (Fungi imperfecti) (Tabla 1.1). En realidad a este grupo -- no se considera como filogenético verdadero, sino más bien -- un grupo "taxonómico convencional", dentro del cual se inclu--

para esporulación e incubadas a temperaturas entre 15 y 37°C, se inicia el ciclo sexual por conjugación de las dos células, las cuales producen muchas hifas con conexiones. La formación primaria queda sumergida bajo el agar, pero las hifas aéreas y las basidias son observadas tres semanas después de la incubación; estas basidiosporas germinan para producir células. Las basidiosporas son ovales o elípticas, con un diámetro entre 1.8 a 2.5 micras, circundadas por una fina pared (6, 8, 22, 32, 60, 61, 106, 108).

1.4.3. MORFOLOGIA.

C. neoformans es un hongo esférico que se reproduce por blastosporas, los brotes se fijan en la célula madre por medio de una fina pared y poros estrechos. Bajo condiciones de rápido crecimiento, las esporas salen precozmente de la célula madre, por lo tanto, las células encontradas en cultivos y en tejidos poseen diámetros muy variados que van de 4 a 20 micras (6, 8, 22, 92).

Microscópicamente se observan diferentes organelos, una pared celular que es relativamente delgada en comparación -- con el gran tamaño de C. neoformans, pudiendo también distinguirse la membrana plasmática. Un núcleo amorfo situado en la parte central del hongo, rodeado por una membrana, y den-

tro de él, se encuentran todos los nucleolos. También puede observarse retículo endoplásmico, ribosomas, lisosomas, mitocondrias, entre otros (Fig. 1) (22, 92).

Un reciente estudio citoquímico en el microscopio electrónico reveló la presencia de hidrolasas ácidas, fundamentalmente fosfatasa ácida (FA), indicando la presencia de lisosomas en organelos cercanos a la membrana. Su origen y función no fué determinada, pero se cree que estos organelos pueden estar involucrados en la digestión de macrófagos dentro de la célula, en el almacenamiento y secreción de hidrolasas dentro de la célula, o en ambas (70).

1.4.4. ESTRUCTURA ANTIGENICA.

La cápsula que rodea a C. neoformans es amplia, gelatinosa y refráctil (15, 22, 92, 96, 111), y contiene los determinantes antigénicos que son divididos en cuatro serotipos, A, B, C y D (6, 8, 22, 96). La mayoría de los cultivos aislados en México pertenecen al serotipo B. Esta cápsula es resistente y defiende al microorganismo contra todo ataque exterior, y no puede ser removida con agua, sólo por hidrólisis ácida (15, 22, 61, 92, 96, 107, 111).

El renovado interés sobre la estructura del polisacárido

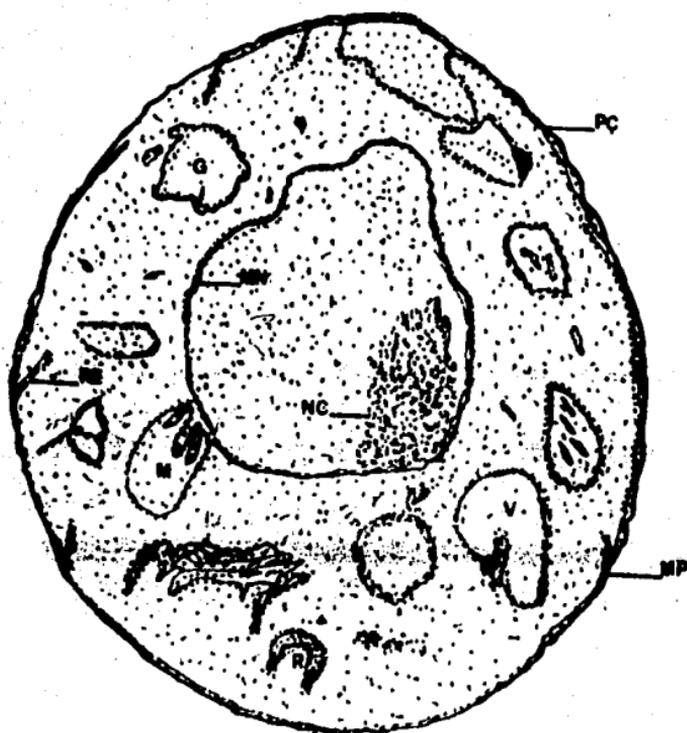


Fig. 1.1. Microfotografía electrónica de C. neoformans (22).

- | | |
|--------------------------|----------------------------|
| PC). Pared celular | RE). Retículo endoplásmico |
| MP). Membrana plasmática | V). Vacuola |
| MN). Membrana nuclear | G). Gránulos de reserva |
| NC). Nucleolos | M). Mitochondria |
| R). Ribosomas | |

do capsular de este hongo, se debe a la evidencia de que en la cápsula reside la patogenidad de la levadura (11, 22, - 92). A este respecto se han efectuado diversos estudios induciendo mutantes en el polisacárido, observándose una disminución en su actividad serológica (11), ésto tiene mucha importancia desde el punto de vista diagnóstico, ya que algo de material capsular se disuelve en el líquido cefalorraquídeo, dando un precipitado en presencia de suero específico anti-Cryptococcus (11, 22, 92).

1.4.5. FISILOGIA.

Las especies de C. neoformans, difieren de otros hongos en forma de levadura por su carácter ureasa positivo (22, -- 86, 92, 111).

La habilidad de las especies de C. neoformans para asimilar el inositol, es una característica muy importante (22, 86). La asimilación de maltosa, sacarosa y dulcitol, pero no de lactosa, es muy importante para diferenciar a este patógeno de otros tipos nitrato positivos que generalmente son ino cuos (22, 92).

Las colonias de C. neoformans producen pigmento crema a café en medio Sabouraud. La morfología de la colonia que cre

ce a 37°C es idéntica a la macroscópica, por lo que se consi
dera dimórfica (22). El crecimiento del hongo es inhibido por
la presencia de ciclohexamida en el medio de cultivo (15, 22,
38, 43, 106, 107, 111).

1.5. FACTORES QUE FAVORECEN A LA CRIPTOCOCOSIS.

Los pacientes inmunodeprimidos tienen mayor riesgo de contraer una infección micótica en general y una criptococosis en particular. Los factores que se encuentran con mayor frecuencia son:

- 1) Receptores de trasplantes de órganos con terapia inmunodepresiva.
- 2) Enfermedades sistémicas, principalmente males hematológicos.
- 3) Enfermedades y/o drogas que inducen neutropenia, especialmente con cuenta menor de $500/\text{mm}^3$.
- 4) Terapia con antibióticos, principalmente de amplio espectro, por largos períodos.
- 5) Terapia prolongada con esteroides y/o citotóxicos.

1.- Receptores de trasplantes de órganos:

La criptococosis se observa más frecuentemente en pacientes con trasplantes renales, a los que se les adminis---

tran agentes citotóxicos (prednisona, azatioprina y/o globulina antilinfocítica) para aumentar la sobrevivencia al injerto; dichos pacientes exhiben un amplio espectro de infecciones micóticas sistémicas diseminadas y oportunistas, aumentando la frecuencia de morbilidad y mortalidad de éstos - (21, 49, 87). La enfermedad puede presentarse meses o años después del trasplante, que algunas veces empieza a manifestarse con fiebres inexplicables (21, 48, 54, 64).

2.- Enfermedades y/o drogas que inducen neutropenia:

Las enfermedades adquiridas, principalmente procesos hematológicos malignos, producen alteraciones variables de las respuestas inmunes y los mecanismos de defensa del huésped - (88). Los pacientes con enfermedad de Hodgkin, por ejemplo, exhiben frecuentemente depresión de la inmunidad celular mediada, especialmente en las fases III y IV de la enfermedad. Pueden existir bajas respuestas primarias del anticuerpo a pesar de niveles normales de inmunoglobulinas. Es marcada la alta incidencia de enfermedades oportunistas en estos pacientes con particular susceptibilidad a parásitos facultativos-intracelulares como lo es C. neoformans (54, 87, 95, 110).

La supresión inmune endógena en otras enfermedades hematológicas, como leucemia mielógena, leucemia linfocítica y leucemia monocítica, contribuyen significativamente a la incidencia de complicaciones infecciosas, de las cuales, el --

INSTRUCTIVO PARA LLENAR LA FORMA DE REGISTRO DE TESIS

1. **Consigne la información de manera clara, de acuerdo a las instrucciones que aquí se señalan. Escriba con tinta.**
2. **No invada las zonas sombreadas. Tales espacios están reservados a la codificación de la información que usted proporciona.**
3. **AÑO EN QUE SE PRESENTA LA TESIS:** Consigne solamente el año (omita el día y el mes); utilice para ello caracteres numéricos únicamente.
4. **AUTOR:** Escriba el nombre del autor en el siguiente orden: apellido paterno, apellido materno y nombre o nombres. Si la tesis ha sido elaborada por más de tres personas, consigne el nombre de las tres primeras en la hoja principal de registro de tesis y solicite una hoja anexa para registrar el nombre de las restantes.
5. **TITULO DE LA TESIS:** Escríbalo tal y como aparece en la portada de la tesis. En caso de haberlo, anexe el subtítulo en el renglón destinado a tal efecto.
6. **LUGAR DE EDICIÓN:** Indique la ciudad donde fue presentada la tesis en examen -- profesional. No se considera lugar de edición la ciudad donde fue impresa la tesis.
7. **NUMERO DE PAGINAS:** Anote el último número que aparezca impreso en la paginación del ejemplar que presente.
8. **ILUSTRACIONES:** Si su tesis cuenta con algún tipo de ilustraciones (mapas, esquemas, diagramas, fotografías, etc.) tache la palabra "SI". Tache en caso contrario la palabra "NO".
9. **IDIOMA:** Indique el idioma en el que fue redactada la tesis sólo en el caso de que sea éste una lengua distinta al castellano. Si su tesis está escrita en español, ignore el renglón correspondiente a idioma y déjelo en blanco.
10. **GRADO ACADEMICO:** Tache la letra que corresponde al grado académico que obtiene mediante la presentación de la tesis: L para licenciatura, M para maestría, D para doctorado y E para especialización.
11. **CARRERA:** Escriba el nombre completo de la carrera objeto de la tesis de acuerdo a su denominación oficial en los planes de estudio de la universidad en la que la cursó. No utilice abreviaturas.
12. **FACULTAD O ESCUELA:** Anote el nombre completo oficial de la facultad a la que corresponde la tesis. No utilice abreviaturas.
13. **UNIVERSIDAD:** Si su tesis fue presentada en alguna facultad o escuela de la - - - U. N. A. M., deje en blanco este renglón. En caso contrario, consigne el nombre completo y oficial de la universidad a la que pertenece la facultad en la que presentó la tesis.
14. **TEMAS DE QUE TRATA LA TESIS:** Anote los temas que más claramente definan el objeto de la investigación. Consígnelos de manera clara y concisa por orden de importancia.
15. **GRADO ACADEMICO DEL ASESOR DE LA TESIS:** Indíquelo -en caso de saberlo- de la misma manera que se pide en el punto 10 de este instructivo.
16. **NOMBRE DEL ASESOR DE LA TESIS:** Escríbalo en el siguiente orden: nombre(s), apellido paterno y apellido materno.
17. **RESUMEN:** Si la tesis que registra corresponde al nivel de doctorado, solicite hoja anexa para redactar un resumen no mayor de una cuartilla. Dicho resumen deberá presentarse -de preferencia- en inglés.

30% son de etiología fúngica, y un gran número de éstas son causadas por C. neoformans (54, 87, 95, 111).

En la mayor parte de los pacientes con neutropenia se han obtenido cuentas de neutrófilos menores de $500/\text{mm}^3$, afectado el número de linfocitos T y por lo tanto, la inmunidad celular mediada se deprime (4).

3.- Agentes antineoplásticos:

Los agentes quimioterápicos del cáncer producen grandes cambios que conducen al establecimiento y diseminación de enfermedades. La ulceración de la mucosa gastrointestinal seguida de la terapia del cáncer, puede permitir la invasión microbiana. La inducción de neutropenia y linfopenia, limitan las respuestas exudativas celulares e inflamatorias del huésped, las cuales son esenciales para detener procesos infecciosos.

Estos agentes inhiben las respuestas primarias y secundarias para la estimulación de antígenos, así como la producción de anticuerpos en general; además, interfieren en la migración de macrófagos y las respuestas de hipersensibilidad retardada. Las membranas lisosomales son estabilizadas, limitando de este modo la función efectora de los leucocitos; -- aunque tal reducción o destrucción de elementos reticuloendoteliales es terapéuticamente deseable, no se descarta el con

comitante riesgo de infección (88).

4.- Sarcoidosis y otras enfermedades.

La sarcoidosis es frecuentemente encontrada en concomitancia con la criptococosis. A este respecto se han efectuado minuciosos estudios inmunológicos en pacientes con esta enfermedad y que han desarrollado criptococosis, encontrándose se la inmunidad celular deprimida, lo que los predispone a la infección criptococal. Se sugiere que la terapia esteroide en la sarcoidosis puede ser la responsable del desarrollo de la criptococosis u otra enfermedad oportunista (4, 54, 92, 104, 107, 111).

Algunas otras enfermedades se han encontrado acompañadas de criptococosis; entre éstas podemos contar: lupus eritematoso sistémico, diabetes mellitus, hepatitis, histoplasmosis, proteinosis alveolar, candidiasis, entre otras (24, 25, 42, 48, 95, 100, 106, 111).

En general, el tratamiento con agentes quimioterapéuticos antineoplásicos, a largo plazo favorece la invasión de hongos oportunistas, al provocar un deterioro importante en los mecanismos de defensa inmunológica, especialmente en la inmunidad celular; por ejemplo, disminución de linfocitos T y granulocitos (87).

5.- Terapia con esteroides:

Es generalmente aceptado que con el empleo de corticosteroides, se alteran las defensas inmunológicas, aumentando la susceptibilidad a infecciones. Se conoce ampliamente que ellos perjudican la acumulación de linfocitos en los sitios de inflamación, alterando la sensibilidad de neutrófilos y particularmente monocitos a estímulos quimiotácticos, y suprimen la inmunidad celular. Los esteroides inducen monocitopenia transitoria (12, 87, 95, 96).

6.- Terapia con antibióticos:

La administración prolongada de antibióticos, particularmente de amplio espectro como las tetraciclinas, o la combinación de ampicilina con aminoglucósidos, aumentan el riesgo de superinfección a organismos resistentes. La alteración de la flora endógena por antibióticos, puede también conducir a la proliferación de organismos tales como C. neoformans u otros hongos oportunistas (12, 87).

7.- Otros:

a). Uremia. Se han encontrado problemas de criptococosis en pacientes con insuficiencia renal, descubriéndose en ellos, linfocitopenia, producción de compuestos nitrogenados de bajo peso molecular que proporcionan un medio ideal para el establecimiento de C. neoformans, además de otros factores predisponentes (27).

b). Malnutrición crónica severa o anemia. No se ha establecido si se trata de un factor de predisposición, o si es otro efecto de los desequilibrios metabólicos o hematológicos. Se reconoce que se presenta más frecuentemente en adultos (42, 87).

c). Defectos congénitos del corazón.

d). Síndrome de Cushing.

e). Embarazo (92).

1.6. EPIDEMIOLOGIA.

La criptococosis es una enfermedad cosmopolita, pero parece ser que el principal factor en su distribución son las aves, las cuales son inmunes a la infección debido a su temperatura (42°C), en la que el hongo sobrevive pero no se reproduce (15, 22, 92, 96, 106, 107, 111). El organismo es recuperado en grandes cantidades del excremento de aves y en desechos de gallineros, en balcones y en áreas rurales de sitios no habitados por aves (9, 92). En este estado desecado, el organismo mide aproximadamente una micra de diámetro, lo que permite su inhalación dentro del espacio alveolar (92).

C. neoformans puede causar lesiones en muchos animales domésticos, siendo la más común, la mastitis del ganado bovino (6, 106, 111).

Se acepta que el organismo penetra casi siempre por la vía respiratoria; sin embargo se ha postulado que el agente causal puede también introducirse al organismo a través de la piel o mucosa nasofaríngea, y en ocasiones por el tubo digestivo (15, 22, 68, 92, 106, 107, 111). Con respecto a esta última forma de contagio, se han realizado estudios en monos, observándose que si se les dá a ingerir una cierta concentración de cultivos de C. neoformans, los animales se enferman en 24 horas y mueren a la tercera o cuarta semana con lesión

nes en el cerebro y miocardio, lo cual demuestra que este -- hongo es capaz de vivir en presencia de jugo gástrico. Esto tiene mucha importancia desde el punto de vista epidemiológico ya que se halla abundantemente en la naturaleza (15).

En cuanto a la incidencia de la criptococosis en relación con la edad, sexo y ocupación, se señala que es mayor entre los 30 y 60 años, aunque se han publicado casos en recién nacidos y en adultos de más de 70 años. La enfermedad prevalece en el sexo masculino 3:1, ésto puede estar en función de la exposición, o como ha sido sugerido en otras micosis, ser una causa de diferencias hormonales. Todas las razas son afectadas por igual, no existiendo relación alguna entre criptococosis y ocupación. Esta enfermedad no es contagiosa (22, 68, 76, 79, 92, 106, 107, 111).

1.7. TIPOS CLINICOS.

La sintomatología de la criptococosis es muy variada y los signos clínicos que se presenten van a depender de las respuestas del huésped contra el agente infeccioso, así como del tipo de órgano afectado; teniéndose los siguientes tipos:

1.7.1. CRIPTOCOCOSIS PULMONAR.

La lesión pulmonar primaria frecuentemente pasa desapercibida, debido a que casi siempre cursa en forma asintomática o con signos muy leves. Se puede observar en el paciente un cuadro de infección subaguda, con fiebre escasa y tos leve, algunos pacientes expectoran en forma mucoides y rara vez con sangre (22, 92, 106, 107). Puede presentarse indisposición y labios pesados, signos de bronquitis, consolidación, depresión, matidez y alteraciones del murmullo vesicular pero los estertores son inconstantes salvo en pacientes con diseminación miliar y terminal a los pulmones (22, 92, 107, 111); en algunas ocasiones se han observado además efusiones pleurales (111).

Las lesiones activas son granulomatosas y mixomatosas y

pueden estar caracterizadas por masas de células de C. neoformans, en las cuales los tejidos del huésped son mecánicamente desplazados por el crecimiento de los hongos; si las lesiones penetran la pared de un bronquio, el paciente arroja un gran número de células del hongo en el esputo (22, 54, 107).

Las lesiones son a menudo bilaterales, pero pueden ser unilaterales y estar limitadas al lóbulo superior (22, 55). Este tipo de criptococosis se ha encontrado con mayor frecuencia en pacientes inmunodeprimidos, con enfermedades hematológicas y linforreticulares, trasplante renal, hepatitis activa crónica, enfermedades del tejido conectivo y diabetes mellitus severa. Más de la mitad de los pacientes con criptococosis pulmonar por alguna razón han recibido terapia con corticosteroides (55, 110).

Radiológicamente, en una infección pulmonar primaria, las sombras son densas, semejantes a una lesión tuberculosa-masiva o neoplasia; es raro observar formación de cavernas. No se afecta el mediastino, lo que diferencia a la criptococosis de otras enfermedades causadas por hongos (22, 92, 111).

1.7.2. CRIPTOCOCOSIS MENINGEA.

La infección del Sistema Nervioso Central es el tipo -- clínico más severo y el más frecuentemente diagnosticado, -- aunque no es el sitio más común de la enfermedad; adquirien-- do mayor importancia por encontrarse comprometido con un 80-- o 90% de criptococosis diseminadas. La razón para la predi-- lección de *Cryptococcus* por el SNC no ha sido explicada, pe-- ro se piensa que el organismo probablemente encuentra aní ba-- jas respuestas (fagocíticas) celulares, y se ha postulado -- que los factores nutricionales selectivos para el hongo es-- tán presentes, lo cual puede estimular su crecimiento (22, - 68, 92, 106).

Los síntomas de la enfermedad suelen aparecer en forma-- gradual y comienzan con cefalea frontal intermitente, que -- más tarde aumenta de intensidad tornándose continua. En oca-- siones el comienzo es brusco con cefalea agudísima, vómito, -- vahído, vértigo, rigidez y dolor en la parte posterior del - cuello; a medida que progresa la enfermedad surgen transtor-- nos mentales con depresión, desorientación, apatía, inquie-- tud, irritabilidad y delirio; el paciente presenta rigidez - de la nuca y signos de Kerning y Brodzinski positivos que co-- rresponden a los de una meningitis crónica. Es frecuente la-- ambliopía, estrabismo, nistagmo, ptosis, diplopía, hemiple-- jía; observándose también neurorretinitis y edema papilar -- (22, 92, 106, 111).

A medida que progresa el padecimiento se aprecia pérdida de peso y de fuerza, el enfermo finalmente entra en coma y muere de insuficiencia respiratoria (111).

Se presenta generalmente en tres formas: meningitis, meningoencefalitis y criptococomas, siendo la primera la más común. La meningoencefalitis es una forma un poco rara, fulminante y se desarrolla rápidamente. Los criptococomas son granulomas criptococales del cerebro, presentándose como una masa intracraneal en expansión, que también puede terminar fatalmente si no se diagnostica a tiempo (92).

Una meningitis criptocócica puede confundirse frecuentemente con un tumor cerebral, una meningitis tuberculosa, un absceso cerebral, y con enfermedades degenerativas del Sistema Nervioso Central (106).

La enfermedad meníngea adquiere carácter crónico en 5 a 10% de los pacientes. Con frecuencia se observan remisiones-celulares y sintomáticas durante períodos de muchos meses, seguidas de recurrencias de los síntomas y organismos. Estos episodios pueden durar varios años, antes de que el paciente muera como consecuencia de la enfermedad (22).

En un estudio efectuado en pacientes con criptococosis meníngea, se observó que la mayoría de éstos eran personas --

que estaban bajo terapia con corticosteroides o drogas citotóxicas, pacientes con males hematológicos, receptores de trasplantes renales, hepatitis activa crónica y enfermedades renales (92, 104).

1.7.3. CRIPTOCOCOSIS CUTÁNEA.

La criptococosis cutánea usualmente acompaña a una infección sistémica y casi siempre se manifiesta después de una enfermedad respiratoria, pero se han diagnosticado casos excepcionales sin lesión pulmonar preexistente (49, 81, 92, 98, 100). Uno de estos casos se presentó en México, se trataba de un paciente que mostraba una úlcera de 2 x 3 cm en el muslo derecho (65); también se ha presentado en Brasil y en Estados Unidos entre otros (49, 81). Las lesiones cutáneas pueden ser pápulas, pústulas acneiformes o abscesos cutáneos con ulceración. Las úlceras pueden ser aisladas o múltiples y semejarse a carcinomas (22, 92, 100).

La ausencia de linfadenopatía regional particularmente, pone en duda el origen externo de tales lesiones cutáneas (92).

Este tipo de criptococosis ocurre en un 10 a 15% de los pacientes con criptococosis diseminadas (87, 92, 100).

Pueden ocurrir lesiones cutáneas transitorias en infecciones experimentales de monos, pero éstas no se producen en otros animales. Las conclusiones de estos estudios sugieren que la implantación traumática es un medio de entrada importante del hongo, pero no ha sido comprobado en humanos (92).

La criptococosis cutánea primaria y secundaria, es una manifestación clínica regularmente encontrada en pacientes inmunodeprimidos. Es difícil diferenciar si una lesión es primaria, pero se ha indicado que las lesiones primarias son superficiales y ulcerativas más que profundas y necróticas y pueden sanar espontáneamente. Las lesiones secundarias se presentan en forma variable, pueden aparecer como ulceraciones superficiales con evidencia de necrosis y formación de costra, u ocurrir como lesiones trombóticas profundas o con apariencia de celulitis (43, 92, 100).

1.7.4. CRIPTOCOCOSIS OSEA.

El involucramiento de los huesos y articulaciones es históricamente importante, ya que el primer caso de la enfermedad fué encontrado en una lesión sarcomatosa de la tibia (22, 92).

Las lesiones óseas ocurren en un 5 a 10% de los pacien-

tes, que es considerablemente menor que la frecuencia encontrada en otras micosis profundas; en lo que respecta a la artritis criptococal, se han diagnosticado solamente 7 casos - (22, 64, 92).

Como en otras enfermedades causadas por hongos, C. neoformans tiene predilección por huesos prominentes, craneales y vértebras, algunas veces por las articulaciones (92).

Para el diagnóstico, la apariencia relativamente estacionaria de la lesión y el conocimiento de proliferación periferica, sugiere que se trate de criptococosis más que de otra micosis. La sinovitis con involucramiento óseo es completamente rara, pero ha sido reportada (92).

La lesión ósea está frecuentemente asociada con dolor e inflamación y se expande lentamente; éstas son osteolíticas y frecuentemente diseminan hacia la piel por extensión, donde la multiplicación del hongo produce una pus viscosa, pudiendo demostrarse en ellas fácilmente al microorganismo --- (22, 111).

1.7.5. CRIPTOCOCCIS DISEMINADAS.

Después de que C. neoformans ha invadido pulmones, mu--

chos órganos y tejidos del cuerpo están sujetos a la invasión. El involucramiento visceral y meníngeo puede semejarse a una tuberculosis y las lesiones granulomatosas pueden tener apariencia histopatológica y sintomatológica a algunos tipos de cáncer (22, 68, 92, 96).

El corazón, los testículos, la próstata y los ojos, están frecuentemente involucrados, en tanto que el riñón, la cápsula suprarrenal, hígado, bazo, nódulos linfáticos, generalmente no se afectan, aunque se han reportado casos de diseminación a estos últimos órganos (22, 92).

El involucramiento ocular se produce por expansión directa del espacio subaracnoideo o por diseminación hematogéna de otros sitios afectados, resultando en la formación de lesiones múltiples en el tracto uveal, vítreo y retina (coriorretinitis criptococal). Esta forma de criptococosis diseminada se ha presentado en pacientes inmunodeprimidos por terapia con drogas y prednisona y después de trasplantes corneales (92).

Cuando la cápsula suprarrenal es invadida, se presentan pequeñas áreas de obliteración debidas al granuloma criptococal, pero no se observan signos de insuficiencia de la cápsula. La endocarditis lenta y los aneurismos micóticos criptococales de la aorta, son raras formas de diseminación (92).

La prostatitis sintomática es causada por granulomas -- criptococales en la próstata, los cuales han sido vistos ocasionalmente (48, 92).

La diseminación pulmonar puede también dar lugar a un tipo poco frecuente de criptococosis, la neumonía intersticial criptococal; por lo que debe incluirse en la evaluación de esta enfermedad, la determinación de antígeno de criptococcus en suero (23). Puede también presentarse peritonitis como un indicador de criptococosis diseminada (13).

En autopsia se ha encontrado algunas veces, lesiones en testículos, timo y tiroides, pero no en la glándula pituitaria ni en órganos genitales femeninos. Las lesiones en los senos, un sitio común de la enfermedad en bovinos, ha sido reportada en humanos sólo dos veces (92).

1.8. DIAGNOSTICO.

El criterio para establecer el diagnóstico de una micosis en general, y de la criptococosis en particular es muy estricto, ya que no existe patología pulmonar o cutánea evidente. Con esta finalidad se han desarrollado una serie de métodos rápidos y específicos que detectan precozmente al agente causal, pudiendo de esta manera instituirse la terapia apropiada.

1.8.1. EXAMEN DIRECTO.

Las células de C. neoformans son bastante frágiles y colapsables y se tornan crecientes en el secado, fijado o teñido del frotis. No obstante, éstas son fácilmente demostrables en preparaciones histológicas teñidas en portaobjetos que se llevan a cabo por examen directo de una monta húmeda; pudiendo distinguirse mejor la cápsula, mezclando el material infectado con una gota de tinta China, nigrosina o cualquier colorante coloidal, ya que de esta manera los organismos son mejor delineados por un contraste negativo (92, --- 100).

Esta técnica se practica generalmente en preparaciones-

de líquido cefalorraquídeo (LCR) y en material obtenido de cualquier lesión cutánea, subcutánea o mucocutánea; aunque también suelen obtenerse resultados positivos con muestras de expectoraciones, orina, fluido cisternal, material cerebral, cortes congelados de tejidos, biopsias maceradas y raramente fluido ascítico (13, 92, 100, 111).

El LCR obtenido deberá ser centrifugado y observarse con una gota de tinta china (92, 106, 107, 111).

En el caso de lesiones cutáneas, un proceso directo que puede llevar a un diagnóstico rápido son las preparaciones de Tzanck. El material raspado del fondo de las vesículas es extendido en el portaobjetos usando una tinción de Wright; de esta misma forma pueden analizarse otros materiales como pústulas, úlceras, lesiones granulomatosas y acneiformes, en las cuales algunas veces se observará producción de hifas (32, 92, 95).

Cuando se tienen lesiones profundas, tales como celulitis, abscesos, nódulos o tumores; se inyecta un mililitro de solución salina en la lesión, seguida por la aspiración con la misma aguja. Se coloca una gota de este material en un portaobjetos combinándolo con una gota de tinta China y protegiendo con un cubreobjetos (100).

Las muestras de expectoración o pus deben ser mezcladas con una cantidad de hidróxido de potasio, con lo que se elimina la mayor parte de células y otros artefactos que pueden interferir con la lectura de la preparación. La cápsula y el organismo resisten a este tratamiento (92, 94).

El material cerebral debe ser comprimido, colocado en un portaobjetos y examinado directamente o después de mezclarlo con tinta china (92).

El organismo también es fácil de distinguir en preparaciones de Papanicolaou de LCR u otro material (92, 96).

Los cortes congelados deben montarse en medio húmedo y teñirse con solución de Giemsa no diluida, pudiendo observarse bajo un cubreobjetos mientras la preparación persista húmeda (111).

Pueden usarse además tinciones especiales que son de gran ayuda en la identificación del hongo. Los organismos se tiñen de rojo con Peryódico de Schiff (PAS) y Mucicarmina (Grocot), de café o negro con metenamina de plata, de azul con Hierro coloidal y de verde con Alcian y Hematoxilina-eosina (95, 100, 106, 111).

Es importante utilizar luz mitigada, ya que el material

de la cápsula es transparente y algunas veces difícil de diferenciar de leucocitos, glóbulos de mielina, gotas de grasa y células de tejidos (92).

1.8.2. CULTIVOS.

La obtención del hongo a partir de cultivos es indispensable, aumentando su importancia si se ha obtenido previamente un examen directo positivo (12, 42, 100).

Para este propósito se recomiendan varios métodos de cultivo, siendo el Sabouraud adicionado con antibióticos antimicrobianos uno de los más utilizados, aunque también puede utilizarse glucosado o sin antibióticos (12, 27, 81, 92, 100, 111). Se han obtenido buenos resultados con el uso de agar neopeptona-glucosa conteniendo 1 o 2% de azúcar, mencionándose además, que en medios sintéticos, la tiamina constituye un factor esencial de crecimiento (22, 111). Es importante incorporar al medio cloranfenicol (0.05 mg/ml), o cualquier otro antimicrobiano; pero nunca utilizar ciclohexamida (actidona), la cual está contenida en la mayoría de los medios selectivos para hongos patógenos, ya que inhibe el crecimiento de C. neoformans (12, 22, 32, 92, 100, 111).

En cuanto al tipo de secreciones o fluidos orgánicos u-

utilizados para la identificación del microorganismo, éstos van a depender del tipo de criptococosis de que se trate. El cultivo de LCR suele ser muy específico y a veces determinante en casos de infecciones meningéas, pulmonares, óseas, u otras micosis sistémicas (104, 107).

Los cultivos de expectoraciones, lavados bronquiales y broncoscopías, en casos de criptococosis pulmonar, son confiables. En estas muestras pueden estar presentes gran número de contaminantes, por lo que se enfatiza el uso de medios selectivos que inhiban el crecimiento de bacterias u hongos (32).

En diseminaciones sistémicas, C. neoformans puede ser cultivado de fluido ascítico y sangre (13).

Cuando la meningitis no se presenta con sus signos y síntomas neurológicos francos, o cuando sólo se presentan estados febriles, el diagnóstico puede aclararse mediante urocultivos (42).

En casos de criptococosis cutáneas, los cultivos deben ser obtenidos usando material de biopsias, úlceras, exudados o fluido aspirado de ampollas (100).

Cuando se cultiva el LCR, se recomienda el uso de fras-

cos de agar que permite la siembra de gran cantidad de líquido y un largo período de inoculación sin evaporación de agua del medio (22).

Las características de los cultivos son: Colonias de -- crecimiento lento (24 a 48 hs), que al principio pueden ser blanco cremoso y a veces café pálido, de aspecto mucoso, -- que pueden ser reconocidas fácilmente por su cápsula grande y prominente en las preparaciones de tinta China (15, 32, -- 81, 92, 107, 111). En las preparaciones se comprueba la presencia de organismos en gemación y en raras ocasiones tubos germinales cortos, lo que permite postular que el hongo trata de reproducirse por formación micelial (107, 111).

En el primer aislamiento las levaduras pueden tener cápsula muy pequeña, pero su observación puede mejorarse por re siembras en agar chocolate a 37°C y con 5 a 10% de CO₂. También puede usarse agar de infusión de corazón, para selección de clones simples que serán utilizadas en estudios fisiológicos para confirmar identificación (92).

En agar corn meal no hay formación de pseudomicelios -- (92). Las colonias de C. neoformans cuando crecen en medios que contienen extractos de ciertas semillas (Guizotia abyssinica-creatinira-agar), producen un color marrón característico (22, 108). La cápsula crece óptimamente en medios de cul-

tivo enriquecidos con productos nitrogenados (106).

En todas las preparaciones el hongo aparece como un microorganismo en forma de levadura, de pared gruesa y en gemación, que mide de 5 a 10 micras de diámetro y se encuentra rodeado por una cápsula ancha, gelatinosa y refráctil (15, - 92, 111).

La tinta china es a menudo contaminada con una serie de artefactos, así como microorganismos y las partículas de carbón aglutinan espontáneamente, por lo que se recomienda correr un control salino para comparación y regularmente comprobar su pureza (92).

Puede haber dificultad para diferenciar a C. neoformans de otras células de hongos pequeños tales como H. capsulatum y Rhodotorula rubra (95).

1.8.3. BIOPSIA.

Debido a que la criptococosis asienta con mayor frecuencia en el Sistema Nervioso Central, es más importante el examen de LCR que el histológico; sin embargo, es fundamental el estudio histopatológico, cuando se obtiene material de biopsia como ayuda complementaria del primero.

Las lesiones varían de órgano a órgano considerablemente, pero en general la respuesta es mínima (92).

En biopsias de piel, tejido subcutáneo o huesos, pueden encontrarse masas abundantes de levaduras, rodeadas algunas veces por células de inflamación crónica y gran número de células gigantes (92, 111). También se identifican organismos distribuidos en dermis, subdermis, o ambas, en ausencia de abscesos miliares. Las lesiones cutáneas aparecen a menudo como tumores similares a mixomas; y los nódulos de la sustancia cerebral extraídos durante intervenciones han resultado ser masas de hongos, de aspecto tumoral, con reacción celular o sin ella (111).

Los nódulos pulmonares resecaos quirúrgicamente, se han identificado en ambos lóbulos del pulmón, tratándose casi siempre de granulomas sólidos; en general pueden observarse dos patrones histológicos básicos, gelatinoso y granulomatoso, pudiendo ambos estar presentes en una misma lesión. El número de organismos es mayor en lesiones gelatinosas (92, 100, 111).

En cualquier corte preparado con material de biopsia y teñido con hematoxilina-eosina, o por la técnica de PAS, puede identificarse al organismo en gemación, rodeado por abundante material capsular y con un tamaño promedio de 5 a 10 -

micras, aunque pueden encontrarse células desde 2 hasta 15 - micras de diámetro o mayores. Con estas tinciones también se observa un halo claro de 3 a 5 micras. Con el colorante de - mucicarmin de Meyer, esta zona puede ser identificada como una cápsula conteniendo material carminofílico, tiéndose tam bién de rojo la pared de la célula. Esta coloración es patog - nómica de C. neoformans (22, 92, 111).

Las células fúngicas pueden encontrarse libres formando masas en el interior del citoplasma de células gigantes.

Es necesario aplicar a los tejidos antes o después de - la fijación, el método de la tinta china para demostrar la - presencia de cápsulas, y con tal finalidad, se raspará la su perficie de un corte reciente de material de biopsia, suspen - diendo el producto del raspado en una gota de tinta China. - La coloración de cortes por el método de Gram, pone en evi - dencia la porción central del organismo, en el interior de - la cápsula mucinosa teñida intensamente de azul (111).

En general, cuando se presenta una micosis pulmonar agu - da, se puede seguir el proceso que se ilustra a continuación el cual es útil en el diagnóstico de micosis oportunistas, a sí como otras micosis (Tabla 1.8.1) (12).

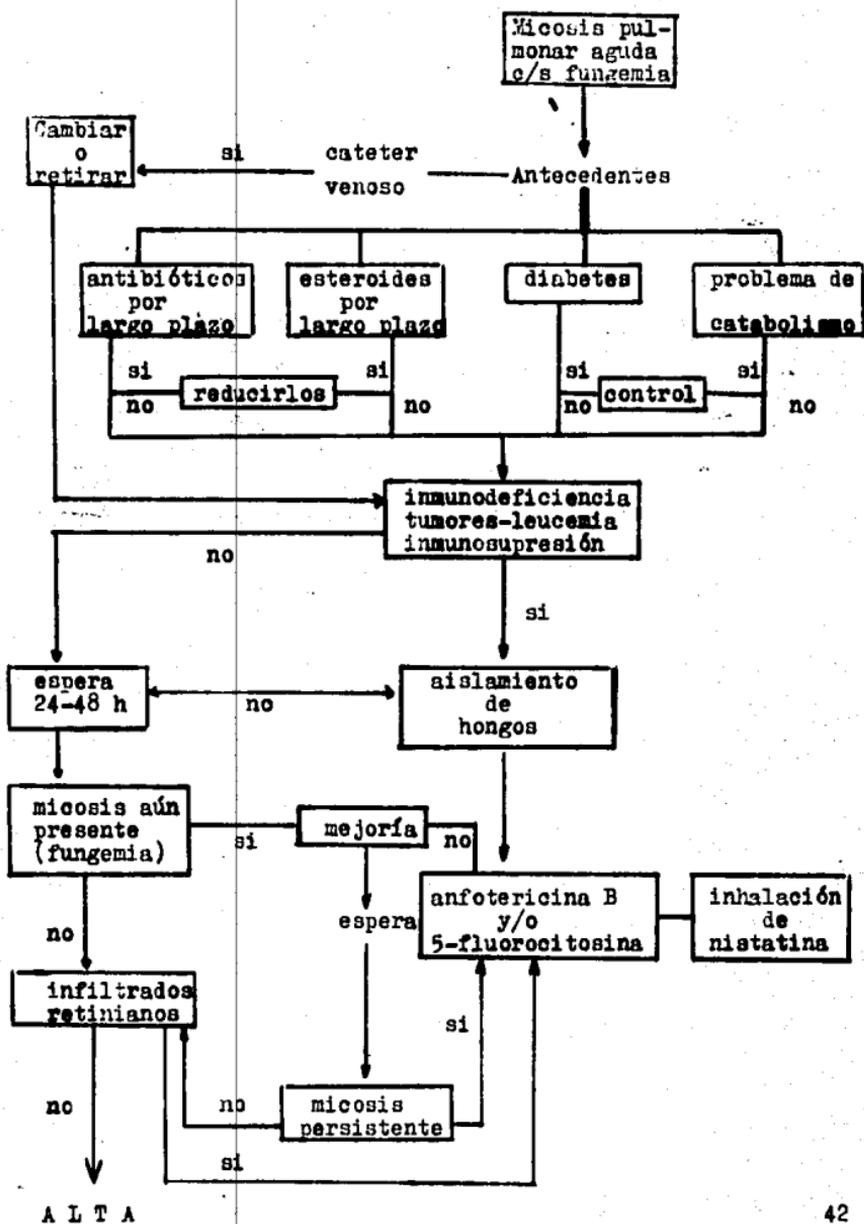


Tabla 1.8.1 (12).

1.8.4. RAYOS X.

Este diagnostico es generalmente utilizado para reafirmar una criptococosis pulmonar u ósea; pero en algunas ocasiones, han sido detectadas infecciones asintomáticas.

El examen radiológico de una criptococosis pulmonar revela un panorama variable, pero los cambios se pueden englobar en cuatro categorías, las cuales se clasifican por el avance y gravedad de la enfermedad, y el estado de los mecanismos de defensa del huésped (92).

El primero y más común, es cuando se presenta una área moderadamente densa y discreta de infiltración, casi siempre en el lóbulo superior, que recuerda a una lesión tuberculosa masiva o neoplasia. Estas lesiones tienen un diámetro de 2 a 7 centímetros, pudiendo extenderse gradual y perifericamente para confundirse con carcinomas, abscesos o quistes hidatídicos, estas lesiones están caracterizadas por masas locales y hongos, desplazando mecánicamente a los tejidos del huésped. Puede producirse rompimiento de la pared bronquial que se manifiesta con una expectoración mucocida, a veces con sangre (92, 95, 111).

En el segundo tipo de lesión hay un involucramiento más amplio y difuso en las áreas pulmonares superiores e inferiores

res. En pacientes con enfermedad infectiva crónica o inmunodeprimidos, la infección puede diseminarse rápidamente a toda la superficie pulmonar, convirtiéndose en una neumonía intersticial bilateral, con un curso rápido e implacable --- (92).

En el tercer tipo se presentan infiltrados peribronquiales extensos, que se extienden rápidamente formando sombras difusas parecidas a una tuberculosis activa (92).

La cuarta forma se asemeja a una tuberculosis hilar, y ocurre generalmente en enfermos con linfoma o leucemia. Las lesiones consisten en pequeños gránulos gelatinosos presentes en toda la zona pulmonar (92, 111).

Son raras las formaciones de cavernas. El mediastino no suele afectarse, signo valioso para diferenciar a la criptococosis de las lesiones pulmonares por actinomicetos y coccidiodios (111).

1.8.5. PRUEBAS INMUNOLOGICAS.

El inmunodiagnóstico en infecciones criptococales ha recibido mucha atención en los últimos años, siendo hoy en --- día, el procedimiento más estandarizado y utilizado (92), ya

que éste ha demostrado su valor no sólo como ayuda diagnóstica, sino también pronóstica (92, 111); se puede realizar en dos formas, una por la búsqueda de anticuerpos y la otra por la identificación de antígenos; indicándonos un mal pronóstico cuando se obtiene un elevado título de antígeno, y un signo de mejoría la elevación de anticuerpos (3, 22, 92, 97, -- 111).

Los principales métodos serológicos son: Aglutinación - de partículas de látex (AL) para antígeno, Anticuerpo fluorescente indirecto (AFI) y Tubo de aglutinación (TA) para anticuerpo, e Inmunodifusión y Fijación de complemento para ambos (12, 69, 92, 107, 111).

Las técnicas AL son altamente sensibles y específicas, además de proveer un método de cuantificación en el manejo de pacientes con criptococosis diseminadas o sistémicas. Muchos autores opinan que cualquier título de antígeno criptococal en LCR o suero indica criptococosis activa, otros opinan que sólo una reacción 2+ en LCR indica evidencia de criptococosis (3, 52, 53, 97). Este método ha dado resultados positivos en más de un 93% de muestras de casos de criptococosis probados (22, 69, 104).

Pueden presentarse problemas con esta técnica en cuanto a la interpretación de los títulos de antígeno; por ejemplo,

cuando los títulos en suero permanecen positivos, mientras - que en LCR bajan a niveles no detectables, lo cual puede indicarnos un foco extracerebral de infección (2). Otro problema que puede presentarse son las reacciones de zona, por lo que se recomienda una dilución 1:4 cuando se sospeche de resultados falsos negativos para un nuevo ensayo, ésto se presenta cuando hay un excesivo número de C. neoformans en la muestra (103).

Pueden también obtenerse resultados falsos positivos, - los que pueden ser eliminados con el uso de controles para - factor reumatoide, Inmunoglobulinas y en general aglutininas no específicas (23, 53, 69, 92, 94, 97). También se recomienda el uso de controles positivos, para reportar como positivas sólo aquellas muestras que aglutinen más fuerte que el - control; éste se encuentra contenido en algunos métodos comerciales (53).

Para evaluar el progreso de un paciente durante la terapia, las técnicas de antígeno se combinan con métodos que detectan la aparición de anticuerpos (3, 22, 92).

Entre los métodos de inmunofluorescencia hay varias técnicas reproducibles y exactas, en éstas, el antígeno es fijado en un portaobjetos, al cual se adiciona suero o LCR del - paciente; la fijación del anticuerpo en el antígeno se detecta

ta por la subsecuente adición de fluoresceína marcada (92).-- Recientemente se ha desarrollado una prueba utilizando el -- principio de esta técnica; es llamada Sero-Matic-System y se ha utilizado en pruebas seriadas cuando se va a examinar un gran número de muestras, dando una efectividad de 91.7% (19, 92).

En este tipo de pruebas es importante hacer notar que -- la intensidad de la reacción fluorescente no es indicativo -- de la severidad de la infección (19).

La prueba TA de C. neoformans muertos con formol, nos -- va a detectar anticuerpos circulantes. Al igual que API es -- muy útil cuando la enfermedad está restringida a una lesión-- aislada en huesos o algún otro órgano (92, 107, 111).

También se ha desarrollado otro método utilizando partí-- culas de carbón para detectar la presencia de anticuerpos -- (92).

Muchos autores opinan que el método de fijación de com-- plemento para antígeno (FC Ag) es el más efectivo, ya que -- con éste se obtienen pocos resultados falsos positivos (53).

El inmunoensayo ligado a enzimas (IELE) es muy sensible en la detección de antígeno de polisacárido capsular cripto-- coccal (PCC), percibiendo concentraciones de 6 ng/ml, compara

do con 35 ng/ml detectable por el método AL, por lo que cuantifica PCC en muestras de suero o LCR que no pueden ser registradas por el método AL. Esta prueba es muy importante ya que los títulos pueden ser registrados por mayor tiempo durante el tratamiento; este método ha demostrado su efectividad en un estudio reciente de criptococosis diseminada en ratones, donde se cuantificó y evaluó el tiempo de aparición y la duración del anticuerpo criptococal y el antígeno en fluidos corporales (101, 102).

Desde hace pocos años a la fecha, se han venido estudiando las reacciones de hipersensibilidad, las cuales son una manifestación común en enfermedades causadas por hongos (105). Al principio se demostró la presencia de un tipo retardado de sensibilidad, en un paciente con criptococosis crónica pulmonar utilizando como antígeno una vacuna destruida por calor. Al realizarse otros estudios se obtuvieron reacciones negativas en infecciones agudas utilizando el mismo antígeno, pero positivas en trabajadores de laboratorio expuestos al mismo hongo y en pacientes durante la fase de recuperación (37, 111). Se postuló que el exceso de polisacárido capsular impide el desarrollo del tipo retardado característico de una alergia. Otros sugieren que el defecto radica en el antígeno, ya que cuando éste es extraído de células criptocócicas enteras y muertas por eter, contiene gran cantidad de carbohidratos, por lo que no se producen reacciones

cutáneas retardadas en cobayos infectados por C. neoformans; en cambio, con células machacadas extraídas por otro método, se observen muy pocos carbohidratos y más proteínas, dando - el antígeno reacciones positivas (105, 111).

Bennett (5, 111), ha realizado varios estudios enfocados a las reacciones de hipersensibilidad retardada (HTR), utilizando un extracto del hongo en urea 11.6 molar o guanidina 7 molar, concluyendo que el antígeno ideal depende del agente disociante el cual debe ser alcalino para favorecer la extracción.

Recientemente han sido reportadas numerosas reacciones en cobayos, voluntarios humanos y pacientes con criptococcosis. Los antígenos utilizados en estos trabajos incluyen extractos de células totales, filtrados de cultivos y extractos de células en urea, los cuales no han sido del todo efectivos pero han ayudado a detectar defectos en la inmunidad celular (5, 46, 79, 99).

Otro antígeno que ha dado muy buenas respuestas es una fracción post-mitocondrial del hongo, la cual produce francas respuestas de inmunidad celular en animales sensibilizados específicamente, además de no dar reacciones cruzadas -- con otros hongos (46).

Se ha demostrado que los ratones timestomizados, no desarrollan HTR ni protección contra el reto criptococal después de inmunizarlos con extractos del mismo hongo; comprobándose que con el trasplante de tejido del timo, se incrementa efectivamente la resistencia inmune del huésped contra C. neoformans, desarrollándose HTR (39, 41).

Estos antígenos no se han utilizado ampliamente en el hombre, pero es posible que con un antígeno adecuado, las técnicas cutáneas de HTR puedan ser usadas diagnóstica y pronósticamente, o al menos puedan contribuir al entendimiento del papel que juegan las respuestas inmunitarias en una infección criptococal, y en las reacciones parásito-huésped, así como en estudios epidemiológicos sobre esta enfermedad (46, 79).

Respecto a la inmunidad celular y a la inmunidad humoral, ha habido muchas publicaciones que reportan estudios tanto en animales como en humanos, habiendo grandes desacuerdos respecto a la importancia de ambos tipos de inmunidad en las defensas del huésped contra la criptococosis (20, 30, 31, 37, 74).

Las observaciones clínicas y de laboratorio sugieren que la inmunidad mediada por células (ICM), es el mecanismo de mayor importancia en las defensas del huésped, no sólo en

criptococosis, sino en muchas enfermedades micóticas sistémicas, habiéndose otorgado el papel predominante debido a que la enfermedad se presenta casi exclusivamente en casos en -- que la ICM se encuentra afectada (enfermedad de Hodgkin, sarcoidosis, linfoma, leucemia, etc.) (29, 30, 31, 37, 39, 41, - 92).

En otros estudios se ha observado que las células T pueden inhibir el crecimiento in vitro, y que la inmunidad puede ser transferida utilizando células del bazo no procesadas, y células enriquecidas de linfocitos derivadas de ratones que hayan sobrevivido a la criptococosis (31, 36, 39, -- 74).

En lo que se refiere a la influencia de las células B - en la criptococosis, en los estudios efectuados se ha observado que el curso de la enfermedad es similar en ratones normales y en aquellos con su inmunidad humoral alterada; por lo que se concluye que la influencia que este tipo de células ejerce en la criptococosis es muy leve o nula (74, 75, - 76).

Los macrófagos, que son células reconocidas como importantes en la resistencia a las enfermedades infecciosas, capaces de ingerir muchos tipos de organismos que logran penetrar en el cuerpo, y que desempeñan papeles importantes en -

Las respuestas inmunitarias de tipo celular y humoral, son consideradas como uno de los mayores sistemas de defensa contra C. neoformans (55, 56, 105).

Se ha observado, que la administración de sílica, la cual destruye a los macrófagos, produce una disminución en la resistencia de los ratones a la infección; pero con la administración de dosis de BCG, la cual activa inespecíficamente a los macrófagos, pueden los ratones soportar altas dosis de C. neoformans (75).

Es importante mencionar que la IgG, es la única opsonina presente en el suero humano que interviene en la fagocitosis de C. neoformans por los macrófagos peritoneales; esto es de mucha importancia debido a que, como se ha mencionado, el hongo posee una cápsula antifagocítica (18, 55, 56, 57, 58, 105).

1.8.6. INOCULACIONES A ANIMALES.

C. neoformans es la única especie patógena del género para el ratón (12, 15, 92, 111), y la enfermedad puede ser producida regularmente en animales, siendo por esto, un importante proceso de diagnóstico (92).

Son pocos los animales sensibles a la infección. Los conejos por ejemplo, son menos susceptibles que los ratones; - esto puede ser debido a la elevada temperatura corporal de los primeros (39.6°C). Se ha experimentado también en cerdos guinea, pero son generalmente resistentes; siendo por ello, - los ratones, los animales de elección para la mayor parte de los trabajos experimentales (22, 40, 92). Recientemente se ha demostrado que la rata es similar en susceptibilidad al ratón, ofreciendo la ventaja de tamaño, por lo que se recomienda para futuros estudios de interacción parásito-huésped en criptococosis experimental (40).

Para producir infecciones criptococales, los organismos son obtenidos de cultivos a los dos o cuatro días de la siembra y suspendidos en solución salina. La mayoría de los tipos son virulentos dentro del rango 1×10^4 a 5×10^6 células, las cuales son contenidas en 0.02 ml de solución salina para inoculación intracerebral, 0.5 ml por vía intraperitoneal y 0.02 a 0.03 ml para inoculación intravenosa, la cual se inyecta en la vena de la cola del ratón. Después de esto, se produce una enfermedad rápida, predecible, progresiva y fatal. Los ratones pueden comenzar a morir una semana a diez días después de la infección, pero normalmente al cabo de dos o tres semanas se efectúa la autopsia, observándose en las masas abdominales gelatinosas y tejido pulmonar y cerebral, la presencia del hongo capsulado en gemación por exa-

men directo en solución salina o tinta China. En la mayor -- parte de los animales se observa inflamación del cráneo indicando una meningitis (92). Esta técnica puede ser utilizada para evaluar la eficacia de agentes quimioterapéuticos (22, 50, 92, 107, 111).

La inoculación intracerebral, así como la intravenosa, son utilizadas para analizar la virulencia de aislados clínicos (92, 107).

En general, la inoculación de animales y especialmente de ratones, es más usada en estudios inmunológicos y quimioterapéuticos que como ayuda diagnóstica, pero se puede recurrir a ella para reafirmar un diagnóstico directo positivo o un cultivo (92, 111).

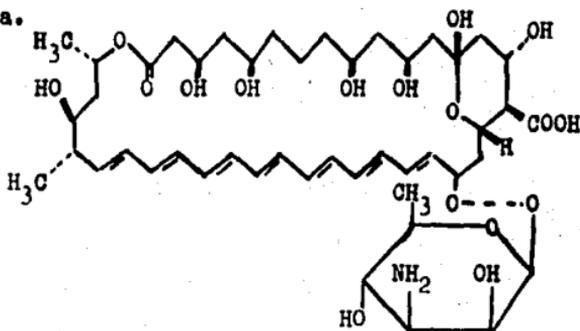
1.9. TRATAMIENTO

Actualmente, hay varias drogas con eficacia clínicamente probada, las cuales son indispensables en el tratamiento de criptococosis sistémicas, y principalmente, cuando se encuentra afectado el Sistema Nervioso Central.

1.9.1. ANFOTERICINA B.

El tratamiento de elección es la anfotericina B, dando excelentes resultados en más del 75% de los casos (22, 33, - 90, 92, 106, 107).

Estructura.



La anfotericina B es un polieno anfotérico del grupo de los glucósidos, cuyo azúcar es la micosamina (12, 33, 67, -- 72). Su fórmula empírica es $C_{46}H_{73}O_{20}N$, y contiene un gran -

anillo de puentes conjugados. Es insoluble en agua e inestable a 37°C, pero estable por semanas a 4°C. Para inyecciones intravenosas se emplea una preparación coloidal, que es un polvo amarillo conteniendo 0.8 mg de deoxicolato de sodio -- por cada miligramo de anfotericina, con un amortiguador de fosfato, para ser disuelta en solución de dextrosa (33, 72).

Mecanismo de acción.

Es fungicida y fungistática. Actúa degradando los esteroides de la membrana citoplásmica al unirse selectivamente al ergosterol, que es el principal esteroide de dicha membrana, alterando así su permeabilidad y características de transporte; esto produce pérdida de los componentes intracelulares, específicamente cationes y sustancias de pequeña molécula como aminoácidos y purinas, trastornando el metabolismo de las funciones celulares, lo que resulta en un daño irreversible a la célula (9, 33, 67, 72, 87).

Dosis.

El régimen de dosificación es similar al que se aplica en otras micosis sistémicas; 0.6 a 1 mg / kg de peso por día, hasta un total de 3 gramos intravenosamente. En casos graves o en pacientes con enfermedades concomitantes, tales como linfoma o leucemia, o en estados inmunodeprimidos, pueden usarse 1.5 mg/kg, esta dosis no debe excederse ya que im

plica un alto riesgo de lesión renal (9, 33, 67, 72, 92).

En virtud de su elevada toxicidad, no es conveniente administrar toda la dosis inicialmente, por lo que el siguiente esquema puede ser de mucha utilidad:

Primer día : 5 mg.

Tercer día : 10 mg e incrementar 5 mg cada tercer día -
hasta un total de 50 mg.

El antibiótico siempre debe ser disuelto en 500 o 1000-
ml de solución de dextrosa al 5% (12, 67, 72, 92).

No existe acuerdo respecto a la duración del tratamiento; los períodos recomendables son de 4 a 8 semanas según la respuesta; 6 semanas es un lapso en el cual casi siempre la respuesta es evidente, sin embargo, puede observarse algún signo de mejoría desde la primera semana. Se recomienda prescribir dosis diarias en la fase aguda de la enfermedad y una vez superada dicha fase, son mejor toleradas las dosis alternas. Esto último está contraindicado por otros que afirman - un aumento en la tolerancia del paciente. Si aumentan los niveles de urea o creatinina en la sangre, la dosis debe ser - disminuída o suspendida hasta alcanzar niveles normales. En cualquier caso debe continuarse el tratamiento hasta que los cultivos sean estériles, negativas las preparacio

nes de tinta China y altos los títulos de anticuerpos (3, -- 12, 67, 72, 92, 111).

Vías de administración.

En esta enfermedad, la vía de administración es tan importante como la dosis (111). La más utilizada y recomendada es la intravenosa lenta, en un tiempo de 4 a 6 horas, o hasta 12 horas. Se puede también administrar por vía intrarraquídea, cuando el caso lo requiera; en los ventrículos laterales brinda un mejor pronóstico de curación y un período menor de tratamiento; esto último no ha sido demostrado ampliamente (12, 67, 72, 87, 92, 105, 111). Puede usarse localmente en pleura en casos de empiemas, en diluciones de 1 mg en 250 ml de solución de dextrosa al 5%. Es raramente necesaria la aplicación tópica (12).

Absorción, metabolismo y excreción.

El fármaco es mal absorbido en el tracto gastrointestinal (33, 67, 72, 92).

Al administrarse por vía intravenosa se une a las proteínas en un 90%, su eliminación renal es del 50% y el resto es metabolizado en el organismo. Desde la sangre, la anfotericina pasa a todos los tejidos, pero difunde poco al LCR, - por lo que algunas veces es necesaria la vía intratecal (12,

67, 72).

Su vida media es de 18 a 24 horas (12, 72).

Reacciones adversas y precauciones.

La anfotericina B ocasiona frecuentemente, sobre todo - al inicio del tratamiento, escalofríos, fiebre (hasta 40°C), náusea y vómito; estas molestias mejoran con aspirina y antieméticos (12, 67).

Las manifestaciones hemáticas consisten en anemia normocítica, leucopenia y trombocitopenia, pudiendo también presentarse anemia hemolítica la cual puede resultar del efecto del fármaco sobre la membrana eritrocitaria, la cual contiene colesterol (12, 67).

La administración intravenosa puede ocasionar paro cardíaco cuando se administra en un lapso menor del indicado, - por lo que debe insistirse en su administración lenta (12).

Los trastornos renales (nefrotoxicidad) se manifiestan por lesiones glomerulares y tubulares, nefrocalcinosis y elevación de potasio; estos trastornos son casi siempre reversibles, pero se puede presentar insuficiencia renal permanente (12, 67, 111). Generalmente la evolución del proceso es - la siguiente:

a). Si la dosis total no excedió de 5 gramos, la lesión renal retrocede espontáneamente al suspender el tratamiento.

b). Si la dosis total ha sido de 5 a 10 gramos, puede quedar un daño renal permanente.

c). Si la dosis se excedió de 10 gramos, puede producir la muerte por insuficiencia renal (67).

La administración intravenosa por largos periodos puede causar tromboflebitis en la vena inyectada, aunque esto es raro cuando se administra adecuadamente (12, 23, 67).

Cuando se administra por vía intrarraquídea, la anfotericina B produce aracnoiditis con deterioro residual severo, comprobándose aracnoiditis severa después de dosis de 0.5 a 1 mg/kg de peso tres veces por semana; pero se observa en grado leve cuando se administran 0.3 mg/kg de peso por inyección rápida, lo que no ocurre si se dá por infusión durante una hora (32, 111).

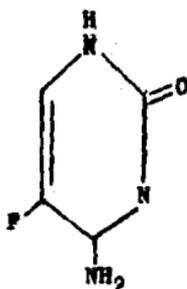
Todo enfermo que reciba anfotericina B debe ser vigilado estrechamente desde el punto de vista de función renal y hepática. Debe efectuarse dosificación cada tercer día, de creatinina y urea; además de examen general de orina el cual puede dar datos en el sedimento, así como pruebas de función hepática, transaminasas y fosfatasa alcalina. El enfermo de-

be ser hospitalizado, y en casos de pacientes que requieran cuidados intensivos, las pruebas de función renal deben ser cotidianas. En casos de intoxicación grave es de gran utilidad la administración de esteroides (12).

1.9.2. 5-FLUOROCITOSINA.

Originalmente fué empleada como agente citostático, resultando poco útil; posteriormente se descubrió su actividad antimicótica (12).

Estructura.



La 5-Fluorocitosina es una pirimidina fluorinada (fluoropirimidina) (12, 87).

Mecanismo de acción.

Este antimetabolito posee actividad fungicida y fungistática, aunque básicamente es fungistático. Actúa sobre los trifosfatos lo cual resulta en la formación de RNA no funcio

nal, inhibiéndose de este modo la síntesis de DNA (12, 72, - 87).

Dosis.

Puesto que puede ser administrada oralmente y es poco tóxica, puede ser rápidamente instituida a dosis elevadas, 2 10 gramos diariamente, hasta un total de 370 gramos (72, 92, 111). Generalmente la dosis es de 150 a 200 mg/kg. de peso en 24 horas, por administración oral en comprimidos que contienen 250 a 500 mg de 5-fluorocitosina, que pueden ingerirse - cada 6 u 8 horas (87).

Vías de administración.

Oral.

Absorción, metabolismo y excreción.

Se absorbe en un 90% por vía gastrointestinal. Su vida-media en el suero es de 2.5 a 6 horas; su unión a las proteínas es mínima y por esta razón pasa fácilmente a LCR. Se elimina por el riñón por vía glomerular en más de un 90% y no se altera su composición química en el organismo (12).

Reacciones adversas y precauciones.

El uso del medicamento puede producir resistencia y hay pocas indicaciones para el uso de la droga sola, ya que gene

ralmente falla en un 70% de los casos, permitiendo diseminación (54).

Puede producir anemia, leucopenia y trombocitopenia; -- particularmente en sujetos con males hematológicos, que han sido radiados, o han recibido drogas que actúan sobre la médula ósea. Raramente se produce pancitopenia (12, 33, 72, -- 87, 111).

Ocasionalmente se produce diarrea moderada que es fácilmente reversible; raramente ocasiona colitis. En algunos casos se ha visto nefrotoxicidad que se traduce por elevación de la fosfatasa alcalina y las transaminasas (12, 72).

1.9.3. ANFOTERICINA B + 5-FLUOROCITOSINA.

Varios estudios han establecido recientemente la eficacia de drogas combinadas, usando anfotericina B y 5-fluorocitosina; esta terapia ha resultado en menos fallas o recaídas, menor nefrotoxicidad y una más rápida esterilización -- del LCR. Esta asociación parece ser el régimen de terapia de elección, ya que se produce una acción supra-aditiva (12, 42 54, 72, 87, 103, 111).

La dosis apropiada es de 0.35 mg/kg de anfotericina B--

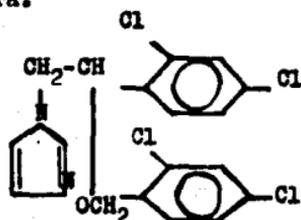
y 150 mg/kg de 5-fluorocitosina diariamente, por vía intravenosa y oral respectivamente (22, 92).

1.9.4. IMIDAZOLES.

a). MICONAZOL.

El miconazol es un derivado sintético del imidazol, que ha dado buenos resultados al ser administrado intravenosamente en criptococosis diseminadas (2, 81, 105).

Estructura.



Mecanismo de acción.

El miconazol afecta la permeabilidad de la membrana en células sensibles, lo cual se hace evidente por la liberación de iones potasio y compuestos fosforilados. Los hallazgos más recientes sugieren que dichos cambios son consecuencia de una interferencia con la biosíntesis de lípidos de las células fúngicas, especialmente de los esteroides, componentes de muchas membranas biológicas. El ergosterol, esteroide primario de las células fúngicas interviene en la estruc

tura y función celular. Bajas concentraciones de miconazol, inhiben la incorporación de acetato al ergosterol, lo cual coincide con una acumulación de lanosterol, que es un precursor del ergosterol, así, la acumulación de C₁₄ metil esteroides origina cambios en la permeabilidad de la membrana e inhibe el crecimiento de células fúngicas (2).

Dosis y vías de administración.

En casos de meningitis, la dosis es de 10 a 20 mg/kg -- por día, que puede ser dada intratecalmente, por vía intraventricular o intravenosa; cuando se administra por esta última vía, se pueden dar dosis superiores (30 mg/kg por día), particularmente en casos de diseminación (2, 81).

Absorción, metabolismo y excreción.

Después de la administración oral o parenteral, el miconazol se observa en LCR a niveles muy bajos, pero se distribuye bien en el suero por lo que se recomienda en criptococosis meníngeas (2, 81).

Reacciones adversas.

La inyección parenteral produce muchos efectos secundarios como tromboflebitis, náusea, fiebre, calosfríos, rash y prurito severo y persistente en algunos casos. Ocasionalmente se puede presentar leucopenia y reacciones de hipersensi-

bilidad. Es frecuente la hepatitis tóxica y puede causar la muerte por la rápida salida de sodio (2, 81).

El miconazol se ha utilizado algunas veces después que la anfotericina B y la 5-fluorocitosina han fallado; sin embargo, cuando se ha administrado como droga de primera elección, los pacientes no han respondido al tratamiento. A pesar de esto, muchos investigadores han hecho notar su efecto contra C. neoformans y algunos otros hongos (105).

b). KETOCONAZOL E ITRACONAZOL.

En últimas fechas se han evaluado estos dos fármacos, - los cuales no son utilizados ampliamente en criptococosis, - ya que son relativamente nuevos (2, 57, 105).

En un experimento efectuado en ratones, el tratamiento combinado de ketoconazol y anfotericina B por 15 días, fué más efectivo que la administración de esta última sola, disminuyendo la mortalidad y la incidencia del hongo en cerebro y pulmones. Sin embargo, cuando el tratamiento se prolongó a arriba de 15 días, se incrementó la mortalidad y el porcentaje de cultivos positivos recuperados de pulmón y cerebro de los ratones; por lo que se sugiere que exista un antagonismo (50).

El itraconazol también ha demostrado experimentalmente su actividad contra C. neoformans. Al ser administrado a ra-

tones infectados por el hongo; se observa una mayor sobrevivencia y negativización de los cultivos, por lo que se afirma -- que puede ser muy efectivo en esta micosis, con la ventaja -- de su administración oral y sus pocas respuestas tóxicas --- (2).

Su estructura y mecanismos de acción son similares al miconazol. La absorción del itraconazol se ve disminuida en pacientes inmunodeprimidos; una probable causa es que la absorción sea impedida por la terapia concomitante con antibióticos, antiácidos, cimetidina, y citostáticos (2).

En la actualidad, el ketoconazol se utiliza como tratamiento profiláctico en pacientes inmunodeprimidos, a dosis -- de 200 mg/día, durante el tiempo que tarde este estado; ésto ha ayudado a la disminución de la incidencia de infecciones -- fúngicas oportunistas en estos pacientes (2, 92).

1.9.5. TECNICAS QUIRURGICAS.

La extirpación quirúrgica de lesiones pulmonares o cutáneas solitarias, parece haber sido exitosa principalmente en formas granulomatosas, pero con el riesgo de que se produzca diseminación, aún con la naturaleza aparentemente benigna de la enfermedad. Este procedimiento puede ser complementado --

con la administración local de Rayos X, yoduros por vía oral, o ambos, que pueden también aplicarse en lesiones óseas (92, 111).

En casos de criptococosis pulmonar, también se ha usado la resección quirúrgica, dando mejores resultados si se aplica conjuntamente uno de los quimioterapéuticos (49, 92, 111).

Los pacientes que desarrollan hidrocefalia deben recibir anastomosis ventriculoperitoneal, o derivaciones de LCR, aconsejándose administrar Anfotericina B (24, 106).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALEKOPOULOS, G. J. : Introducción a la Micología, Universitaria de Buenos Aires 3a. Ed., 1979 pp. 415-416.
- 2.- ARIAS, G. I. : Itraconazol en Micosis superficiales. Tesis de especialidad. Servicio de Dermatología, Hospital General de México S. S. 1985.
- 3.- ASENOWICZ, R. et al. : Value of the latex test in cryptococcal meningitis. *Med. J. Aust.* 1(8): 347-349, 1979.
- 4.- BELCHER, R. W. et al. : Immunologic studies in patients with sarcoidosis and cryptococcosis. *Arch. Dermatol.* 111 (6): 711-716, 1975.
- 5.- BENNET, J. E. et al. : Cryptococcal skin test antigen: - Preparation viables and characterization. *Infect Immun.* 32(1): 373-380. 1981.
- 6.- BENNET, J. E. et al. : Epidemiologic differences among serotypes of Cryptococcus neoformans. *Am. J. of Epidemiol.* 105 (6): 582-586. 1977.
- 7.- BEVAN, J. A. : Essentials of Pharmacology, Hoeber Medical Division, Harper and Row, Publishers Inc. 1a. Ed., - 1969.

- 8.- BHATTACHARJEE, A. K. et al. : Anticryptococcal type D antibodies raised in rabbits. *Mol. Immunol.* 20(4): 351- 359. 1983.
- 9.- BOWMAN, P. I. and AHEARN, D. G. : Ecology of *C. neoformans* in Georgia. Proceedings of the fourth international conference on mycoses. The black and white yeasts. Pan-American health org., Washington, D. C. 1978. pp. 258- 268.
- 10.- BRENN, J. P. et al. : Cryptococcal capsular polysaccharide-induced modulation of murine immune responses. *Infect. Immun.* 36(1): 47-51. 1982.
- 11.- CHERNIAK, R. et al. : Structure and antigenic activity - of the capsular polysaccharide of *C. neoformans* serotype A. *Mol. Immunol.* 17(8): 1025-1032. 1980.
- 12.- CIGERO, S. R. : Micosis generales en medicina crítica. - Consideraciones Generales. *Micología Médica. Desarrollo y Estado Actual de la Micología Médica en México.* Ed. Linares y coler, México, 1980. pp. 73-92.
- 13.- OLIFT, S. A. et al. : Peritonitis as an indicator of disseminated cryptococcal infection. *Am. J. of the Gastroenterology.* 77(12): 922-924. 1982.
- 14.- COHEN, H. : Cryptococcosis and the basidiospore. *Lancet.* 1(8284): 1301. 1982.

- 15.- CONNANT, F. et al. : Micología, Interamericana, 3a. Ed. México 1972. pp. 101-112.
- 16.- Da SILVA, L. C. and MELHEM, S. C. : Survey of immune-allergic reactions with cryptocoecosis among a police battalion in Sao Paulo. Proceedings of the fourth international conference on mycoses. The black and white yeasts.- Panamerican health org., Washington, D. C. 1978. pp. -- 274-276.
- 17.- DAIGLEISE, A. G. : Concurrent hydatid disease and cryptocoecosis in a 16-year-old girl. The Med. J. of Australia. 2(3): 144-145. 1981.
- 18.- DAVIES, F. S. et al. : Opsonic requirement for the uptake of *C. neoformans* by human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. J. Infect. Dis. 145(6): 870-874. - 1982.
- 19.- DI SALVO, A. F. et al. : Evaluation of an automated procedure for the indirect fluorescent antibody test for cryptocoecosis. Proceedings of the fourth international conference on mycoses. The black and white yeasts. Panamerican health org., Washington, D. C. 1978. pp. 295- - 299.
- 20.- DOMER, J. E. et al. : Cellular immunity in a cutaneous model of cryptocoecosis. Infect. Immun. 40(3): 1052- -- 1059. 1983.

- 21.- DUSTON, M. et al. : Cryptococcal meningitis causin fever of unkwon origin in renal transplant recipients. — Transplantation. 32(4): 334-336. 1981.
- 22.- EMMONS, CH. W. et al. : Medical Micrology, Lea and Febiger, 3a. Ed. Philadelphia, 1977. pp. 206-228.
- 23.- FISHER, B. D. and ARMSTRONG, D. : Cryptococcal interstitial pneumonia. Value of antigen determinations. The — New England Journal of Medicine. 279(26): 1440-1441. — 1979.
- 24.- FRIEDMAN, G. D. : The rarity of cryptococcosis in northern California. The 10-year experience of a large defined population. Am. J. of Epidemiol. 117(2): 230-234. — 1983.
- 25.- FROMETIN, H. et al. : Experimental cryptococcosis in mice treated with diacetoxysciperinol, a micotoxin of fusarium. Saboursaudia. 19(4): 311-313. 1981.
- 26.- FROMTLING, R. A. et al. : Kinetics of lymphocyte transformation in mice immunised with viable avirulent forms of *C. neoformans*. Infect. Immun. 24(2): 449-453. 1979.
- 27.- FROMTLING, R. A. et al. : Effect of uremia on lymphocyte transformation and chemiluminescence by spleen cells of normal and *C. neoformans*-infected mice. Infect. Immun. 32(3): 1073-1078. 1981.

- 28.- FRONTLING, R. A. et al. : Immunization of lymphocytes - transformation in mice immunized with viable avirulent-forms of *C. neoformans*. *Infect. Immun.* 24(2): 299-305.- 1979.
- 29.- FRONTLING, R. A. et al. : Immunization of mice with an avirulent pseudohyphal form of *C. neoformans*. *Mycopathologia.* 68(3): 179-188. 1979.
- 30.- FRONTLING, R. A. et al. : Immunization of mice with stable, acapsular, yeast-like mutants of *C. neoformans*. *Sa bouraudia.* 21(2): 113-119. 1983.
- 31.- FUNG, P. I. and MURPHY, J. : In vitro interactions of immune lymphocytes and *C. neoformans*. *Infect. Immun.* 36 (3): 1128-1138. 1982.
- 32.- GEI-MONTERO, F. and ALVARO, P. : Clinical and epidemiological aspects of cryptococcosis in Costa Rica. Proceedings of the fourth international conference on mycoses. The black and white yeasts. Panamerican health org., Washington, D. C. 1978. pp. 195-198.
- 33.- GOTH, A. : Farmacología Médica. Ediciones Doyma S. A. - España 9a. Ed. 1979. pp. 595-598.
- 34.- GOTTLIEB, D. and SHAW, P. D. : Antibiotics-Mechanism of action. Springer-Verlag 1a. Ed. 1967. pp. 749-750.

- 35.- GRAYBILL, J. R. and AHRENS, J. : Immunization and complement interactions in host defense against murine — cryptococcosis. *J. of the Reticuloendothel. Soc.* 30(5): 347-357. 1981.
- 36.- GRAYBILL, J. R. and ALFORD, R. D. : Cell-mediated immunity in cryptococcosis. *Cell. Immunol.* 14(1): 12-21. — 1974.
- 37.- GRAYBILL, J. R. and DRUTZ, D. J. : Host defense in cryptococcosis. II. Cryptococcosis in the nude mouse. *Cell. Immunol.* 40(2): 263-274. 1978.
- 38.- GRAYBILL, J. R. and MITCHELL, L. : Cyclophosphamide effects on murine cryptococcosis. *Infect. Immun.* 21(2): 674-677. 1978.
- 39.- GRAYBILL, J. R. and MITCHELL, L. : Host defense in cryptococcosis. III. In vivo alteration of immunity. *Myco-pathologia.* 69(3): 171-178. 1979.
- 40.- GRAYBILL, J. R. et al. : Pulmonary cryptococcosis in — the rat. *Am. Rev. Respir. Dis.* 127(5): 636-640.
- 41.- GRAYBILL, J. R. MITCHELL, L. and DRUTZ, D. J. : Host defense in cryptococcosis. III. Protection of nude mice — by thymus transplantation. *J. Infect. Dis.* 140(4): 546-552. 1983.

- 42.- GREER, D. F. : Cryptococcosis in Colombia. Epidemiological and clinical aspects. Proceedings of the fourth international conference on mycoses. The black and white yeasts. Panamerican health org., Washington, D. C. 1978.
- 43.- GRIFFIN, D. H. : Fungal Physiology. John Wiley and Sons E.E.U.U., Ed. 1981. p. 313.
- 44.- GRIFFIN, F. M. : Roles of macrophages Fc and C3b receptors in phagocytosis of immunologically coated *C. neoformans*. Proc. Natl. Acad. Sci. 78(6): 3853-3857. 1981.
- 45.- HALL, N. K. and BLACKSTOCK, R. : Production of specific antibody to *C. neoformans* by hybridomas in vitro. Sauerbraudia. 19(2): 157-160. 1981.
- 46.- HAY, R. S. and REISS, E. : Delayed-type hypersensitivity responses in infect mice elicited by cytoplasmic fractions of *C. neoformans*. Infect. Immun. 22(1): 72-79. 1978.
- 47.- HENDERSON, D. K. et al. : Long-lasting specific immunologic unresponsiveness associated with cryptococcal meningitis. J. Clin. Inv. 69(5): 1185-1190. 1982.
- 48.- HUYNH, M. T. and REYES, C. V. : Prostatic cryptococcosis. Urology. 20(6): 622-623. 1982.
- 49.- IACOBELLIS, P. W. et al : Primary cutaneous cryptococ-

ccosis. Arch. Dermatol. 115(3): 984-985. 1979.

- 50.- IWEN, P. C. et al. : Treatment of murine pulmonary cryptococcosis with ketoconazole and amphotericin B. J. Infect. Dis. 149(4): 650. 1984.
- 51.- JONES, H. E. : Radimetric technique to measure yeast --- growth. Proceedings of the fourth international conference on mycoses. The black and white yeasts. Panamerican health org., Washington, D. C. 1978. pp. 138-144.
- 52.- KAUFMAN, L. and BLUMER, S. : Cryptococcosis. The awakening giant. Proceedings of the fourth international conference on mycoses. The black and white yeasts. Panamerican health org., Washington, D. C. 1978 pp. 176-184.
- 53.- KAUFMAN, G. A. et al. : Detection of cryptococcal antigen. Comparison of two latex antigen tests. Am J. Clin. Pathol. 75(1): 106-109. 1981.
- 54.- KERKERING, T. W. et al. : The evolution of pulmonary --- cryptococcosis. Ann. Intern. Med. 94(5): 611-616. 1981.
- 55.- KOZEL, T. R. and FOLLETE, J. L. : Opsonisation of encapsulated *C. neoformans* by specific anticapsular antibody. Infect. Immun. 31(3): 978-984. 1981.
- 56.- KOZEL, T. R. and GOTSCHILICH, E. G. : The capsule of *C. neoformans* passively inhibits phagocytosis of the ---

- yeasts by macrophages. *J. Immunol.* 129(4): 1675-1680. - 1982.
- 57.+ KOZEL, T. R. and Mc GAW, T. G. : Opsonization of *C. neoformans* by human immunoglobulin G; Role of the immunoglobulin G in phagocytosis by macrophages. *Infect. Immun.* 25(1): 255-261. 1979.
- 58.- KOZEL, T. R.; HIGHSON, B. and STATTON, C. J. : Localization on encapsulated *C. neoformans* of serum components-opsonic for phagocytosis by macrophages and neutrophils. *Infect. Immun.* 43(2): 574-579. 1984.
- 59.- KOZEL, T. R.; REISS, E. and CHERNIAK, R. : Concomitant but no causal association between surface charge and inhibition of phagocytosis by cryptococcal polysaccharide. *Infect. Immun.* 29(2): 295-300. 1980.
- 60.- KWON-CHUNG, K. J. : Heterotalism vs. self-fertile isolates. Proceedings of the fourth international conference on mycoses. The black and white yeasts. Panamerican-health org., Washington, D. C. 1978. pp. 204-213.
- 61.- KWON-CHUNG, K. J. and BENNET, J. E. : Epidemiologic differences between the two varieties of *C. neoformans*. *Am. J. Epidemiol.* 120(1): 123-130. 1984.

- 62.- LASH, W. H. et al. : Dynamics of cryptococcal infection by the airborne route. Proceedings of the fourth international conference on mycoses. The black and white yeasts. Panamerican health org., Washington, D. C. 1978.- pp. 199-203.
- 63.- LEE, I. et al. : Altered responsiveness of murine lymphoid cells treated with cryptococcal capsular polysaccharide. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 169(4): 427-431. - 1982.
- 64.- LEFF, R. D. et al. : Cryptococcal arthritis after renal transplantation. Southern Medical Journal. 74(10): 1920, 1981.
- 65.- LIM, T. S. and MURPHY, J. W. : Transfer of immunity to cryptococcosis by T-enriched splenic lymphocytes from C. neoformans sensitized mice. Infect. Immun. 30(1): 5-11. 1980.
- 66.- LIM, T. S. et al. : Host-etiological agent interactions in intranasally and intraperitoneally induced cryptococcosis in mice. Infect. Immun. 29(2): 633-641. 1980.
- 67.- LITTER, M. : Farmacología experimental y clínica. El ateneo, Buenos Aires Argentina 5a. Ed., 1977. pp. 1729--

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

1734.

- 68.- MAC KINNON, S. et al. : False positive cryptococcal antigen test and cervical prevertebral abscess. JAMA. 240 (18): 1982-1983. 1978.
- 69.- MATTHEW, L. et al. : Métodos de laboratorio. Interamericana, México, D. F. , 2a. Ed. 1976. pp. 1026-1028.
- 70.+ MASON, D. L. and WILLSON, CH. L. : Cytochemical and biochemical identification of lysosomes in *C. neoformans*.- *Mycopathologia*. 68(3): 183-190. 1979.
- 71.- Mc. GAW, T. G. and KOZEL, T. R. : Opsonization of *C. neoformans* by human immunoglobulin G: Masking of immunoglobulin G. by cryptococcal polysaccharide. *Infect. Immun.* 25(1): 262-267. 1979.
- 72.- MEYERS, F. H. et al. : Review of Medical Pharmacology.- Lange Medical Publications. Los Altos Calif. 7a. Ed. -- 1980. pp. 580-584.
- 73.- MILLER, G. P. and KOHL, S. : Antibody-dependent leukocyte killing of *C. neoformans*. *J. Immunol.* 13(3): 1455- 1460. 1983.

- 74.- MILLER, G. P. and PUCK, J. : In vitro Human lymphocyte-responses to *C. neoformans*. Evidence of primary and secondary responses in normals and infected subjects. *J. Immunol.* 133(1): 166-172. 1984.
- 75.- MONGA, D. P. : Role of macrophages in resistance of mice to experimental cryptococcosis. *Infect. Immun.* 32 -- (3): 975-978. 1981.
- 76.- MONGA, D. P. et al. : Experimental cryptococcosis in -- normal and B-cell deficient mice. *Infect. Immun.* 26 --- (1): 1-3. 1979.
- 77.- MOSSER, S. A. et al. : Immunization of mice by intracutaneous inoculation with viable virulent *C. neoformans*.-- Immunological and histopathological parameters. *Infect. Immun.* 35(2): 685-696. 1982.
- 78.- MURPHY, J. W. and Mc. DANIEL, D. O. : In vitro reactivity of natural killer (NK) cells against *C. neoformans*.-- *J. Immunol.* 28(4): 1577-1583. 1982.
- 79.- MURPHY, J. W. and PAHLAVAN, N. : Cryptococcal culture - filtrate antigen for detection of delayed-type hypersensitivity in cryptococcosis. *Infect. Immun.* 25(1): 284-- 292. 1979.

Panamerican health org., Washington, D. C. 1978. pp. --
237-245. .-

- 87.- RAY, T. L. : Fungal infections in the immunocompromised host. *Med. Clin. of North America*. 64(5): 955-968. 1980.
- 88.- RHODES, J. C. : Contribution of component complement C5 to the pathogenesis of experimental murine cryptococcosis. *Sabouraudia*. 23(2): 225-234. 1985.
- 89.- RHODES, J. C. et al. : Production and regeneration of - protoplast from cryptococcus. *Sabouraudia*. 23(2): 77-80. 1985.
- 90.- RHODES, J. C. et al. : Genetic control of susceptibility to *C. neoformans* in mice. *Infect. Immun.* 29(2): 494-499. 1980.
- 91.- RIPPON, J. W. : Los hongos patógenos. Aspectos taxonómicos y morfológicos. *Micología Médica. Desarrollo y estado actual de la micología médica en México. Línea y color.* México 1a. Ed. 1980. pp. 17-21.
- 92.- RIPPON, J. W. : Medical Micology. W. B. Sanders Company Philadelphia 2a. Ed. 1982. pp. 532-556.

- 80.- MURPHY, J. W. et al. : Regulation of cell-mediated immunity in cryptococcosis. *J. Immunol.* 130(8): 2876-2881.- 1983.
- 81.- NAZARE, I. P. et al. : Cryptococcosis cutánea pura. *Med. Cut. I. L.A.* IX: 289-293. 1981.
- 82.- NISHIMURA, K. R. : Histopathological studies on experimental cryptococcosis in the nude mice. *Mycopathologia.* 68(3): 135-145. 1979.
- 83.- PERFECT, J. R. and DURACK, D. T. : Chemotactic activity of cerebrospinal fluid in experimental cryptococcal meningitis. *Sabouraudia.* 23(5): 37-45. 1985.
- 84.- PINCUS, M. R. et al. : Disseminated cryptococcosis in an asymptomatic alcoholic man. *Arch. Intern. Med.* 141 - (6): 796-798. 1981.
- 85.- PORTER, K. G. et al. : C. neoformans-specific oligoclonal immunoglobulin in cerebrospinal fluid in cryptococcal meningitis. *The Lancet.* 1(8024): 1962. 1977.
- 86.- QUEIROZ, L. A. et al. : Assimilation of carbon sources by C. neoformans. Proceedings of the fourth international conference on mycoses. The black and white yeasts.-

- 93.- RUSSEL, B. et al. : Immunoperoxidase localitation of --
 sporothrix schenckii and C. neoformans. Arch.Dermatol.-
 115(6): 433-435. 1979.
- 94.- RYTEL, M. W. : Rapid diagnostic methods in infectious -
 diseases. Adv. Intern. Med. 20: 37-60. 1975.
- 95.- SALFELDER, K: : Pathology of cryptococcosis, candidia--
 sis and torulopsis. Proceedings of the fourth interna--
 tional conference on mycoses. The black and white yeas--
 ts. Panamerican health org., Washington, D. C. 1978. pp
 214-217.
- 96.- SALFELDER, K. et al. : Micosis profundas en el hombre.--
 Harla S.A. de C. V. México 1a. Ed. 1979. pp. 15-23.
- 97.- SALOM, I. L. : Cryptococcal meningitis. Significance of
 positive antigen test on undiluted spinal fluid. N. Y.--
 State J. of Med. 81(9): 1369-1370. 1981.
- 98.- SAULS, A., LAVALLE, P. and RODRIGUEZ, G. : Cutaneous cryp--
 tococcosis. Intern. J. Dermat. 19(1): 457-458. 1980.
- 99.- SCHIMPPF, S. C. and BENNET, J. E. : Abnormalities in --
 cell-mediated immunity in patients with C. neoformans -
 infection. J. Allergy. Clin. Immunol. 55(6): 430-441. +

1975.

100.- SCHUPBACH, C. W. et al. : Cutaneous manifestations of disseminated cryptococcosis. Arch. Dermatol. 112(12): 1734-1740. 1976.

101.- SCOTT, E. E. et al. : Comparison of enzyme immunoassay and latex agglutination methods for detection of *C. neoformans* antigen. Am. Soc. Clin. Pathol. 73(6): 790-794. 1980.

102.- SCOTT, E. N. et al. : Enzyme-linked immunosorbent assay in murine cryptococcosis. Sabouraudia. 19(4): 257-265. 1981.

103.- STAMM, A. M. and POLT, S. A. : False negative cryptococcal antigen test. JAMA. 244(12): 1359. 1980.

104.- STOCKSTILL, M. T. and KAUFFMAN, C. A. : Comparison of cryptococcal and tuberculous meningitis. Arch. Neurol. 40(2): 81-85. 1983.

105.- TANG, I. J. and MORELLI, R. : Immediate hypersensitivity to *C. neoformans*. Infect. Immun. 31(2): 842-844. 1981.

106.- TORO, G. G. et al. : Criptococosis del Sistema Nervio-

so Central (SNC). Rev. Fac. Med. U.N. Colombia. 39(1):
1-13. 1973.

107.- VELASCO, -C. O. and TAY, Z. J. : Nociones de Micología.
Poo. Méndez Cervantes. 2a. Ed. México, 1978. pp. 209--
214.

108.- WEBSTER, J. : Introduction to fungi. Cambridge Univer-
sity Press 2a. Ed. Londres, 1981. pp. 500-501.

109.- WOLD, M. D. et al. : Massive antigenemia during disse-
minated cryptococcosis. Mayo Clin. Proc. 55(8): 513---
515. 1980.

110.- YOUNG, E. J. et al. : Pleural effusions due to C. neo-
formans: a review of the literature and report of two-
cases with cryptococcal antigen determinations. Am. --
Rev. Respir. Dis. 121(4): 743-747. 1980.

111.- ZAPATER, H. : Micología Médica, (introducción a la). -
Ateneo S.A. 2a. Ed. Argentina, 1970. pp. 224-251.