



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO CLÍNICO-MICOLÓGICO DE 70 CASOS DE
CRIPTOCOCOSIS MENÍNGEA DIAGNOSTICADOS EN EL
HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO OD DESDE ENERO DE 2003 A
ENERO DE 2009**

T E S I S

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA:

HAI DÉE ÁLVAREZ ALCÁNTARA



MÉXICO, D. F.

AÑO 2009



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** Abel Gutiérrez Ramos

VOCAL: **Profesor:** José Alejandro Bonifaz Trujillo

SECRETARIO: **Profesor:** Misael González Ibarra

1er. SUPLENTE: **Profesor:** Juan Carlos Sigala Alanis

2° SUPLENTE: **Profesor:** Araceli Mendieta Rergis

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO O.D.

ASESOR DEL TEMA:

M. EN C. JOSÉ ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO

(nombre y firma)

SUPERVISOR TÉCNICO (Si lo hay):

M. EN C. JAVIER ARAIZA SANTIBÁÑEZ

(nombre y firma)

SUSTENTANTE (S):

HAIDÉE ÁLVAREZ ALCÁNTARA

(nombre (s) y firma (s))

Agradecimientos

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas; leyendo, opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dándome ánimo, molestándome, acompañándome en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad.

Agradezco a:

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser la fuente de mis conocimientos.

A Alexandro Bonifaz por haber confiado en mi persona, compartir sus conocimientos y su amistad, además de sus invaluable consejos.

Al laboratorio de Micología del Hospital General de México OD, en especial a Marco y Javier por su apoyo y amistad.

*A mi madre por ser siempre mi soporte, mi ejemplo de vida y tenacidad.
A la pequeña Ere que me ha enseñado tanto con esa fuerza, nobleza y gran corazón y a Natalia... Gracias a las tres por su amor incondicional.*

Eliseo, Vicente, Luis y Cecy: gracias por sus consejos y apoyo en todo momento.

Gera y Edgar: gracias por aligerar la carga y sacarme siempre una sonrisa.

A Iván por su amor, apoyo incondicional y objetividad.

Y por supuesto, a mis grandes amigos: Marié, Mirelle, Amparo, Cristina, Rodolfo, Mónica, Cynthia, Gaby, Alberto, Carlos, Paty y Paola.

INDICE

1. Introducción.....	6
2. Marco teórico.....	6
2.1 Planteamiento del problema.....	6
2.2 Antecedentes.....	7
2.3 Justificación.....	30
2.4 Objetivos.....	31
3. Material y métodos.....	32
3.1 Tipo de estudio.....	32
3.2 Definición del universo de estudio.....	32
3.3 Criterios de inclusión.....	32
3.4 Criterios de exclusión.....	33
3.5 Criterios de eliminación.....	33
3.6 Selección de las fuentes, métodos, técnicas y procedimientos.....	33
3.7 Definición del plan de procesamiento y presentación de la información.....	33
3.8 Aspectos éticos.....	33
4. Resultados.....	34
5. Discusión.....	38
6. Conclusiones.....	42
7. Bibliografía.....	44
8. Glosario.....	51

I. Introducción

Cryptococcus sp., es una levadura capsulada que se ha convertido rápidamente en uno de los hongos oportunistas a nivel mundial más reconocido. Desde la aparición de la epidemia ocasionada por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), *Cryptococcus neoformans* ha sido responsable de una de las infecciones oportunistas más críticas en individuos de todo el mundo.^{1,2}

La criptococosis es una micosis de curso subagudo o crónico, causada por *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii*. Se caracteriza por afectar inicialmente pulmones y posteriormente diseminarse a piel y órganos interiores, con una clara predilección hacia el Sistema Nervioso Central (SNC). Aunque la ruta natural de infección por *C. neoformans* es el tracto respiratorio, la criptococosis puede involucrar muchos sitios del cuerpo y órganos. La manifestación clínica más común de la criptococosis en el humano es la meningitis.^{2,3}

Se han establecido varios métodos del laboratorio por diagnosticar la criptococosis entre los que se encuentran: examen directo y tinciones, cultivos, biopsias, pruebas inmunológicas, etc. El diagnosticar esta enfermedad de manera oportuna e iniciar tratamiento antifúngico adecuado lo más pronto posible es de vital importancia para estos pacientes.^{2,4}

2.1 Planteamiento del problema

¿Cuál es la sensibilidad de los métodos de diagnóstico de criptococosis meníngea realizados en el Laboratorio de Micología del Hospital General de México en 70 casos registrados de enero de 2003 a enero de 2009?

2.2 Antecedentes

La primera vez que se aisló *Cryptococcus neoformans* fue en 1894 en Italia por Sanfelice, de la cáscara de melocotón y lo llamó *Saccharomyces neoformans*.

4

En un plazo de un año, y de manera independiente, Busse y Buschke describieron el primer caso de criptococosis humana en una mujer joven, que desarrolló una úlcera crónica cutánea sobre la tibia, con identificación de levaduras en el tejido y después en la autopsia. También se encontró que esta levadura se había diseminado a numerosos órganos de su cuerpo. Se le asignaron varios nombres, como *Saccharomyces neoformans*, *Cryptococcus hominis* y *Torula histolytica*, pero no fue hasta 1901 cuando el micólogo francés Vuilemin lo reclasificó a partir de Busse y Curtis en el género *Cryptococcus*. Basándose en estudios de morfología y características de la cepa, comprobó que no tenía la capacidad de formar ascosporas como lo hacía el género *Saccharomyces*.⁵

En 1914, Versé describió un caso de meningitis criptococósica en un ser humano, y en 1916 Stoddard y Cutler describieron a detalle la anatomopatología del SNC en esta infección, también describieron que las levaduras se rodeaban de un halo más claro en el tejido. Este signo fue la primera descripción de la estructura característica de esta levadura: la cápsula de polisacáridos.⁶

En los últimos años es importante citar los estudios de Kwon-Chong (1975-1976) quien descubrió dos estados teleomórficos (sexuados) basidiosporados, denominados *Filobasidiella neoformans* y *Filobasidiella bacillispora*.^{2,7}

En el año 2003 se secuenció el genoma de *C. neoformans*, lo que nos permite una información más completa sobre el comportamiento de esta levadura capsulada.²

ETIOLOGÍA

Los dos principales agentes etiológicos son: *Cryptococcus neoformans*, que tiene dos variedades: *grubii* y *neoformans* y *Cryptococcus gattii*. Son levaduras capsuladas clasificadas dentro de la *Phyla* (División) *Basidiomycota*, familia

Fillobasidiella. Excepcionalmente la criptococosis es producida por otras especies de *Cryptococcus*.^{2,4}

TAXONOMÍA

Se han caracterizado más de 30 especies de *Cryptococcus*, de las cuales *C. neoformans* y *C. gatti* son habitualmente patógenas, mientras que *C. laurentii*, *C. albidus* y *C. curvatus* excepcionalmente han causado infecciones en pacientes inmunocomprometidos (Tabla 1).²

Tabla 1. Taxonomía de *Cryptococcus* spp. (Tomado de Bonifaz A.²)

DIVISIÓN:	<i>Basidiomycota</i>
CLASE	<i>Himenomycetes</i>
ORDEN	<i>Tremellales</i>
FAMILIA	<i>Filobasidiaceae</i>
GÉNERO	<i>Fillobasidiella</i> (Fase teleomorfa o sexuada)
ESPECIE	<i>neoformans</i>
ESPECIE	<i>bacillospora</i>
GÉNERO	<i>Cryptococcus</i> (Fase anamorfa o asexuada)
ESPECIE	<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i>
	<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i>
	<i>C. gattii</i>

Fundamentados en reacciones de aglutinación capsular, existen cinco serotipos, A, B, C, D y el híbrido AD.

En base en las pruebas bioquímicas, como la capacidad de utilizar glicina como la única fuente de carbono y de nitrógeno, la resistencia a canavanina y la morfología del estado sexual (como la forma y estructura de las basidiosporas),

se aceptó que *C. neoformans* incluyera dos variedades: la variedad *neoformans* (serotipos A, D, y el híbrido AD) y la variedad *gattii* (serotipos B y C) (Tabla 2).²

Recientemente, el serotipo A ha sido diferenciado como una nueva variedad, var. *grubii*. Actualmente, este microorganismo es clasificado en dos variedades y una especie: *C. neoformans* var. *neoformans* (**D**), *C. neoformans* var. *grubii* (**A**), y *C. gattii* (**B, C**).²

Tabla 2. Clasificación de *Cryptococcus* (Tomada de Chayakulkeeree & Perfect¹)

Especies	Variedades	Serotipos	Tipos Moleculares
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>grubii</i>	A	VNI, VNII
	<i>neoformans</i>	D	VNIV
<i>Cryptococcus gattii</i>	-	AD*	VNIII
	-	B	VGI, VGII, VGIII, VGIV
	-	C	

*Híbrido diploide

C. neoformans se ha subdividido en más de nueve tipos moleculares distintos en base a secuencias de DNA detectadas mediante PCR, RAPD, AFLP, RFLP y MLST.³

Cryptococcus neoformans y *Cryptococcus gattii* no sólo difieren en el tipo de hospedero y la distribución geográfica sino también difieren en las manifestaciones clínicas. Aunque ambas especies afectan el SNC, *C. gattii* parece invadir el parénquima cerebral más comúnmente que *C. neoformans*.

Además, los pacientes infectados por *C. gattii* manifiestan síntomas mucho tiempo antes de la presentación de la enfermedad. Debido a las diferencias en las manifestaciones clínicas y la enfermedad resultante, es sumamente importante identificar con precisión las especies responsables de esta infección.⁶

ECOLOGÍA

C. neoformans es un saprófito en la naturaleza. Se describió por primera vez en las frutas, pero después de varios años de investigación está claro que

tiene un hábitat ambiental asociado a ciertos árboles y a la madera en descomposición. Un segundo descubrimiento es el hallazgo frecuente de *C. neoformans* en el suelo contaminado con el guano de las aves.⁶

***C. neoformans* serotipos A, D y AD (var. *neoformans* y var. *grubii*)**

En la década de 1950, Emmons^{8,9} aisló por primera vez *C. neoformans* del suelo y de los excrementos y nidos de las palomas. Desde las primeras publicaciones, el hongo se ha encontrado en muestras de suelo de todo el mundo; sin embargo, las tierras con más cantidad de *C. neoformans* son aquellas frecuentadas por las aves, sobre todo por palomas, pavos y pollos. En el guano de otras aves, como el de los canarios y los loros, también se ha encontrado la levadura.^{9,10}

Las palomas y diversas aves se convierten en reservorios o vectores indirectos que mantienen al microorganismo, pero no adquieren la enfermedad, esto se ha atribuido, entre otras cosas, al estado inmune y a la temperatura corporal que es de 40-42°C, a la cual, *C. neoformans* se puede reproducir, pero es poco virulento; se cree que la presencia de esta levadura en las aves, provoca una infección asintomática en el intestino, por lo que el guano sale infestado del hongo y se puede mantener en el medio ambiente, en especial si persiste cierta humedad. El guano de las aves es por lo regular alcalino, y tiene una gran cantidad de productos nitrogenados que mantienen viable al microorganismo hasta por varios meses.^{2,4}

***C. gattii* (serotipos B y C)**

Al contrario que las otras dos variedades, *C. gattii* nunca se ha cultivado del guano de las aves. Además, parece que hay cierta limitación geográfica para la aparición de infecciones por esta variedad.⁸

Partiendo de esta base, Ellis y Pfeiffer¹¹ pudieron cultivar a *C. gattii* a partir de la vegetación de los alrededores y asociada a las especies de eucalipto *Eucalyptus camaldulensis* (eucalipto rojo) y *E. tereticornis*, en Australia. En un

estudio realizado en Colombia, se aisló *C. gattii* serotipo B de 46 muestras de eucaliptos (27,5%)⁸. Debido a que estos árboles se exportan a otras partes del mundo donde también se observa esta variedad de infección, estos autores llegaron a la conclusión de que estas especies de árboles pueden ser un vector de esta especie.

Se sugirió que las blastoconidias o las basidiosporas podrían liberarse en relación con la floración de estos árboles, pero esto no se ha demostrado.⁶

La asociación de estos árboles con la variedad *gattii* continúa siendo firme, pero un brote reciente de criptococosis en la isla de Vancouver (Columbia Británica) sugiere que otros árboles, como los abetos, los arces y los robles, también pueden representar un nicho ecológico para esta variedad de *Cryptococcus*.⁸

Steenbergen y cols,¹¹ presentaron un estudio que ha dado nueva información sobre el hábitat y mantenimiento de la virulencia de *C. neoformans*; ellos descubrieron que algunas amibas y nematodos del suelo, como *Acanthamoeba castellanii* y *Caenorhabditis elegans* pueden fagocitar a las levaduras y éstas pueden mantenerse en ambos organismos desarrollando cápsula, producción de fosfolipasas, ureasas y melanina; este fenómeno indica que tanto amibas como nematodos pueden ser reservorios y sobre todo, que hacen que las levaduras mantengan los factores de virulencia actuando como lo harían los macrófagos.^{2, 11, 12}

En México, se llevó a cabo un estudio en el cual se muestra a *C. neoformans* variedad *neoformans* como la más prevalente (97,15%) seguida de *C. albidus* y *C. uniguttulatus*, estos resultados fueron comparables a estudios previos realizados en Latinoamérica.¹⁶

ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

La criptococosis es una enfermedad cosmopolita. En cambio, los agentes etiológicos y sus variedades tienen una localización más definida, así tenemos que las variedades *neoformans* y *grubii* son las que tienen mayor distribución, la primera se da más en climas templados (A), y la segunda en Europa y resto del mundo (D). La especie *C. gattii*, predomina en zonas tropicales y subtropicales, en el sur de California (B y C) y en el resto del mundo sólo el serotipo B.

La vía de entrada es casi siempre respiratoria a través de propágulos, sin embargo hay reportes de casos cutáneos primarios que se inician por la inoculación a través de una solución de continuidad. *C. neoformans* también puede ingresar por vía oral (frutos, leche), pero la lisozima salival y el pH ácido del estómago lo inactivan la mayoría de las veces. ²

Por lo regular la criptococosis es más frecuente en pacientes del sexo femenino en una relación aproximada de 2:1, aunque en algunos grupos de alto riesgo como los pacientes con SIDA, el predominio es masculino hasta en 4:1. La enfermedad se presenta entre la 3ª y la 5ª década de la vida, habiendo reportes desde recién nacidos hasta ancianos. La criptococosis se presenta con mayor incidencia en individuos de raza blanca (sajona), sin embargo actualmente esto tiene poca relevancia, debido a que en más del 90% del total de casos se asocian a VIH/SIDA, siendo el factor predisponente más importante en todo el mundo.

Los datos más recientes indican que este padecimiento afecta entre el 6-10% de los pacientes con SIDA y que en regiones como el Sureste asiático y África, puede alcanzar hasta el 30%. ^{2,22}

PATOGENIA

La patogenia de la criptococosis está determinada por tres factores generales:

1. El estado inmunológico del hospedero.
2. La virulencia de la cepa de *C. neoformans*.
3. El tamaño del inóculo.

El papel relativo de cada factor como determinante de la enfermedad clínica continúa siendo incierto, pero está claro que la complejidad del conjunto de estas interacciones produce la manifestación final.^{6,12}

La criptococosis pulmonar se inicia por inhalación de las blastoconidias (Figura 1), y actualmente se sabe que también de las basidiosporas (fase teleomórfica), éstas llegan hasta los alveolos atravesando las vías respiratorias, generando así el primo-contacto pulmonar, que la mayoría de veces cursa de manera subclínica o asintomática y no genera una respuesta inflamatoria tan intensa como lo hacen otros hongos y micobacterias. *C. neoformans* prolifera rápidamente si no existe una adecuada defensa celular, en especial células mononucleares (linfocitos, histiocitos, etc.), esto explica porqué los pacientes con linfomas son altamente susceptibles a la enfermedad.^{2,6}

Si el proceso infeccioso no se detiene, los microorganismos fácilmente se diseminan por vía linfática y hematógena, con gran predilección hacia el SNC, en donde el LCR es más deficiente en un factor fungistático denominado factor anticriptocócico; pudiendo evadir fácilmente la respuesta inmune; 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, piel y huesos.
1,2,4,6

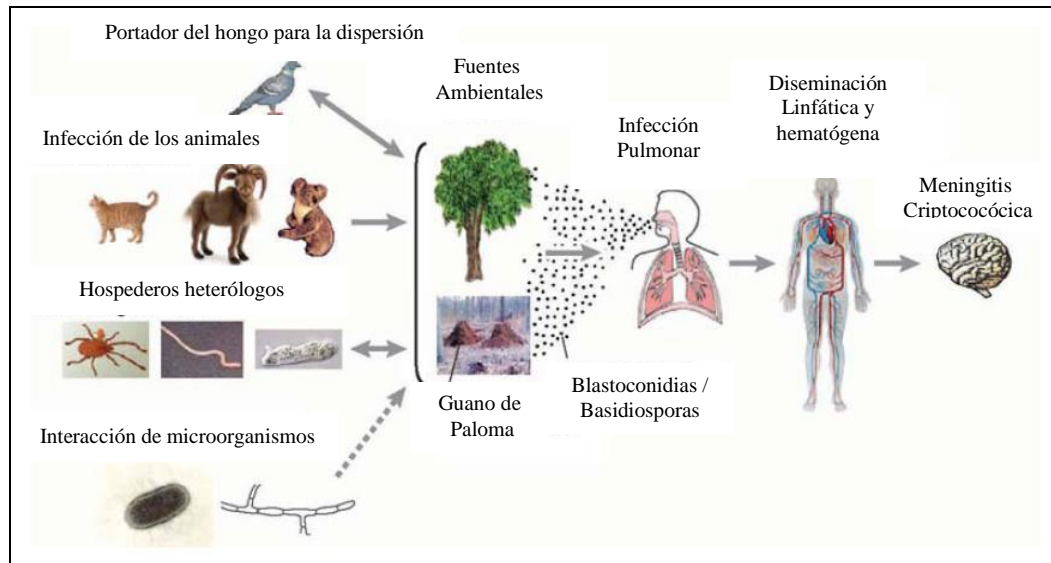


Figura 1. Ciclo de Infección de *Cryptococcus* (Tomada de Lin X., Heltman J.

4)

Las levaduras de *C. neoformans* pueden penetrar por vía cutánea, dando criptococosis primaria cutánea, que se inicia por la formación de un complejo primario similar al de la esporotricosis, es decir, se forma un chancro o lesión inicial constituido por linfangitis y adenitis, este puede involucionar por completo o formar una lesión granulomatosa, ulcerada o de diversos aspectos morfológicos.

C. neoformans (ambas variedades) y *C. gattii*, tienen una serie de factores de virulencia, que favorecen el desarrollo y establecimiento de la enfermedad, dentro de los tres más importantes son: la cápsula, producción de melanina (*in vivo*) y ureasa. Asimismo tienen gran importancia otros, como diversas enzimas: lacasa (para degradación de lignina), fosfolipasas, proteasas y superóxido dismutasa, así como la capacidad de adaptación o conexión celular “switching”.^{2,12}

Cápsula

El rasgo más distintivo de *C. neoformans* es su cápsula de polisacáridos que contiene una cadena no ramificada de unidades de manosa con enlaces α -1,3 sustituidos con radicales xilosilo y β -glucuronilo (Figura 2).

La especificidad de los serotipos parece estar determinada por las diferencias estructurales de los glucuronoxilomananos en relación con el número de xilosa y el

grado de O-acetilación de los grupos hidroxilo. El polisacárido capsular tiene una elevada carga negativa en la superficie celular y está fijado a la pared celular por residuos de α -1,3-glucano. Sin embargo, se libera con facilidad al medio de cultivo o al tejido adyacente. ⁴

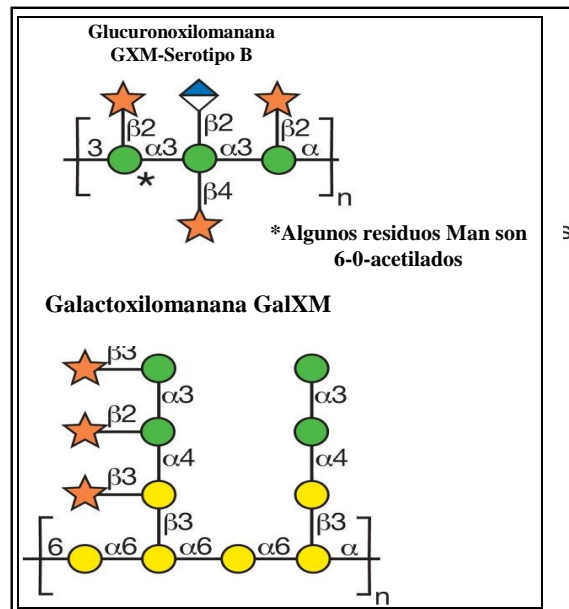


Figura 2. Composición de la Cápsula de *Cryptococcus neoformans*
(Tomada y modificada de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf>)

El polisacárido capsular puede tener un considerable impacto sobre la inmunidad del hospedero a muchos niveles fisiopatológicos. Por ejemplo, se ha demostrado que produce los siguientes efectos en el hospedero. ⁴

- Actúa como barrera antifagocítica.
 - Consume el complemento.
 - Provoca insensibilidad de los anticuerpos.
 - Desregula la secreción de citocinas.
 - Interfiere con la presentación de antígeno.
 - Produce edema cerebral.
 - Ocasiona la pérdida de selectina y del receptor del factor de necrosis tumoral.
 - Aumenta la replicación del VIH.
- Sin embargo, algunos mecanismos no han sido claramente descritos.

Melanina

C. neoformans posee lacasa, una enzima que cataliza la conversión de compuestos difenólicos (ej., L-DOPA, norepinefrina, epinefrina y otros compuestos aromáticos relacionados) a quinonas, que se autopolimerizan con rapidez para formar melanina. La producción de este pigmento ayuda a la identificación de esta levadura en el laboratorio, pero también es un destacado factor de virulencia (Figura 3).^{1,12}

Uno de los mecanismos propuestos por los que la melanina puede proteger a la levadura es mediante su capacidad para actuar como antioxidante, y se ha demostrado que las células fúngicas incapaces de sintetizarla son más susceptibles al estrés oxidativo. Otros mecanismos mediante los cuales la melanina protege a la levadura frente al daño del hospedero son:

- Integridad o soporte de la pared celular.
- Alteración de la carga de la pared celular.
- Interferencia con la respuesta mediada por linfocitos T.
- Inhibición de la fagocitosis mediada por anticuerpos.
- Protección contra los cambios de temperatura y los fármacos antifúngicos.^{6,12}

Actualmente también se ha descrito que es de suma importancia la participación del ión hierro (Fe^{2+}) para el desarrollo de la enfermedad, debido a que influye directamente sobre dos de los factores de virulencia (cápsula y melanina) y al igual que en los mucorales, actúa como sideróforo.²

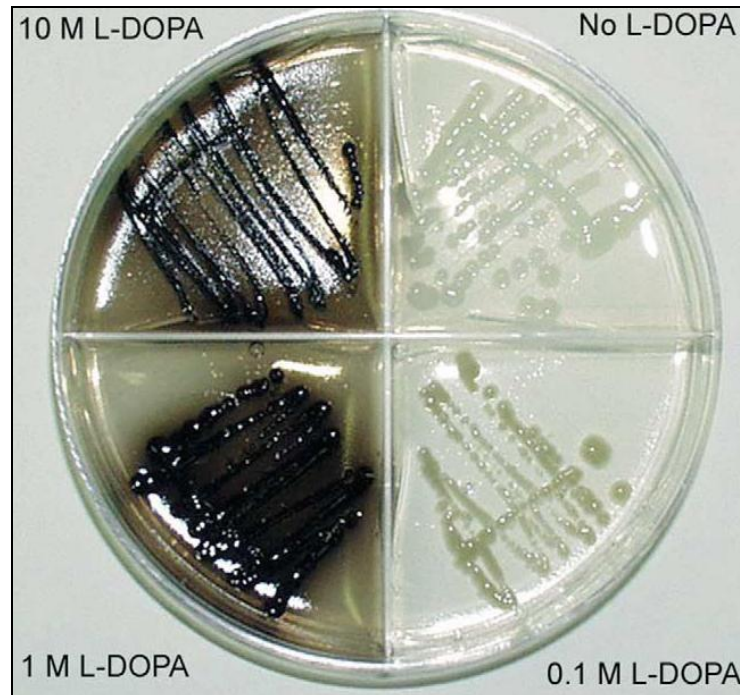


Figura 3. Crecimiento de *C. neoformans* en medio de Agar Mínimo que contiene L-DOPA en un rango de 0 a 10 M. (Tomado de Steenberg JN, Casadevall A. ¹²)

ASPECTOS CLÍNICOS

Las manifestaciones clínicas de la criptococosis varían según el estado inmunitario del paciente, siendo mucho más grave en los pacientes inmunosuprimidos y especialmente con SIDA (Tabla 3). ^{1, 2, 6,12}

La criptococosis muestra varias diferencias en función de si el paciente presenta o no una infección subyacente por el VIH. Los pacientes infectados por el virus presentan más infecciones del SNC y extrapulmonares, mayores exámenes directos con tinta china positivos, mayores títulos de antígeno polisacárido, hemocultivos positivos con más frecuencia, y menos células inflamatorias en el LCR.

Estas distinciones clínicas dependen sobre todo de la gravedad de la inmunosupresión y de la elevada carga resultante de levaduras. ^{2,6}

Tabla 3. Factores predisponentes (Tomada de Chayakulkeeree & Perfect ¹)

Factores de riesgo predisponente para presentar Criptococosis
<ul style="list-style-type: none">• Infección por VIH• Tratamiento con corticosteroides (mayor de 20 mg de prednisona)• Trasplante de órgano sólido• Linfomas , leucemias , Enfermedad de Hodgkin• Linfopenia• Diabetes mellitus• Enfermedades pulmonares crónicas o Cáncer pulmonar• Cirrosis• Embarazo• Falla Renal o Pacientes en Diálisis Peritoneal• Pacientes en manejo con anticuerpos monoclonales (etanercept, infliximab, alemtuzumab).

La clasificación clínica de la criptococosis es la siguiente:

- 1) Pulmonar
- 2) Del Sistema Nervioso Central
- 3) Cutánea
- 4) Ósea
- 5) Ocular
- 6) Diseminada

Criptococosis pulmonar

El aparato respiratorio es la puerta de entrada más frecuente para esta levadura, y los síntomas varían desde una colonización asintomática de las vías respiratorias hasta una neumonía potencialmente mortal con signos de un síndrome de dificultad respiratoria agudo.

Los pocos casos sintomáticos se manifiestan desde estadios leves hasta graves, dependiendo del estado inmune del paciente. La enfermedad casi siempre se localiza de manera bilateral confinada al lóbulo superior, sin embargo hay casos unilaterales. ^{1, 2, 6}

La sintomatología de la criptococosis leve simula un cuadro gripal, acompañado de tos, fiebre y discreto dolor pleural; sin embargo cuando el proceso se intensifica, la fiebre es más constante, hay pérdida de peso, astenia, adinamia y el paciente presenta tos con esputo mucoso o hemoptóico. A la exploración física se detectan alteraciones en el murmullo vesicular y estertores inconstantes. Es importante mencionar que cuando la enfermedad genera focos regulares, simula una neumonía por bacterias G (-), y en los casos graves se confunde con la tuberculosis miliar. Pocas veces se observa la formación de criptococomas. ²

Los rayos X y tomografías demuestran una variedad de imágenes, por ejemplo infiltrado que semeja tuberculosis; lesiones sólidas que simulan neoplasias o abscesos pulmonares, y cuando el proceso es crónico se puede observar un moteado miliar difuso. ⁶

Criptococosis del Sistema Nervioso Central

Es la variedad más frecuente, y la que más se diagnostica; se origina a partir del foco pulmonar, posterior a una diseminación hematológica; se presenta hasta en más del 80% de los casos. La neurofilia de *C. neoformans* se ha atribuido a varias razones como son: la falta del factor anticriptocócico en LCR, porque puede evadir fácilmente la respuesta inmune, así como la presencia de sustancias que estimulan el crecimiento como la asparagina y creatinina. ^{2,6}

La criptococosis en el SNC se puede presentar en tres formas o variedades:

Meningitis

Es la variedad clínica más frecuente y por lo regular se manifiesta en forma crónica y gradual; se inicia con cefalea intensa (frontal), así como dolor retroocular,

hay fiebre constante pero no intensa (38°C). Los signos de meningitis crónica están presentes: rigidez, dolor de nuca y los signos de Kerning y Brudzinski son positivos. Conforme el padecimiento se hace crónico, el enfermo presenta vómito constante, vértigo, delirio, alucinaciones, irritabilidad, convulsiones jacksonianas y pérdida temporal de la memoria. En algunos casos hay compromiso oftálmico en forma de neurorretinitis y edema papilar, y por la misma afección neuronal se presentan fotofobia, estrabismo, diplopía y nistagmo.⁶

La meningitis criptocócica toma un rumbo crónico dependiendo de las condiciones del paciente, hay reportes de cronicidad de hasta 20 años. Cuando el padecimiento progresa rápidamente, el ataque al estado general es severo, manifestándose con gran pérdida de peso, astenia y adinamia, dando paso al coma y por lo regular el paciente muere por insuficiencia respiratoria.⁶

Meningoencefalitis

Es una entidad clínica rara, casi siempre de curso agudo y fulminante; se presenta en pacientes con severa inmunodepresión, como pacientes sometidos a intensa terapia inmunosupresora (trasplantes) o con SIDA.²² El enfermo presenta todos los signos y síntomas de una meningoencefalitis aguda y rápidamente cae en coma, que en un término de 2 a 3 días lo lleva a la muerte.²

Criptocomas (Granulomas criptococales)

Son una entidad extraordinariamente rara, se conforman de masas fúngicas que se desarrollan en el cerebro en forma de abscesos que regularmente se confunden con neoplasias. Los pacientes en un inicio presentan cefalea, náusea, vómito, convulsiones de tipo jacksoniano, y por la misma compresión cerebral y medular, se generan diversas manifestaciones oftálmicas, hemiplejía y hemiparesia. El curso de esta variedad también es grave y migra fácilmente al coma, paro respiratorio y muerte.²

Criptococosis cutánea

Cutánea primaria

Es una entidad clínica rara, se inicia a partir de la inoculación del hongo por vía cutánea a través de una solución de continuidad, formándose un complejo primario similar al de la esporotricosis, constituido por linfangitis y adenitis; dependiendo de las condiciones del paciente (estado inmune), la lesión primaria puede involucionar por completo o manifestarse en forma de lesiones nódulo-granulomatosas. La topografía clínica depende del sitio de inoculación, por lo regular es en miembros superiores e inferiores. Cuando el proceso está bien establecido, la morfología cutánea es de abscesos ulcerados, o bien lesiones papuloides de tipo acneiforme.²

Cutánea secundaria

Es una entidad clínica más común, se presenta en un 10-15% de los casos, se origina a partir de la diseminación hematógena o linfática de criptococosis pulmonar y/o meníngea. La topografía preferente es en cara, cuello y miembros. Los aspectos morfológicos son muy variables, no existe una lesión elemental que oriente; en general la mayoría de casos se presentan en forma de lesiones pápulo-acneiformes, muy similares a los moluscos contagiosos, sobre todo cuando se presentan en cara y cuello; otro tipo de lesiones son nódulos, abscesos y úlceras. En menor proporción se pueden presentar en forma de lesiones nódulo-linfangíticas, simulando esporotricosis; o bien tumorales y verrugosas, así como manchas purpúricas.²

La mayoría de pacientes refieren escaso prurito y poco dolor. Es importante resaltar la variabilidad morfológica de la criptococosis cutánea, por lo tanto en todo paciente inmunosuprimido con cuadros neurológicos y lesiones cutáneas, debe tomarse una biopsia de piel, para su estudio micológico e histopatológico. A diferencia de la criptococosis primaria, esta variedad tiene mal pronóstico y por lo regular es la primera manifestación de SIDA.^{2,22}

Criptococosis ósea

Es una entidad clínica relativamente frecuente, se calcula que aproximadamente el 10% de los casos de criptococosis tienen compromiso óseo.

Se origina a partir de focos pulmonares y/o meníngeos, tiene una predilección en orden decreciente por huesos largos (fémur, tibia, esternón etc.), huesos craneales y vértebras. Puede afectar también las articulaciones.²

Las lesiones más comunes son de periostitis, osteofibrosis, y sobre todo francas zonas de osteólisis; en este último tipo de lesiones se pueden originar fístulas que salen a piel, y drenan un material seropurulento mucoso. La sintomatología más frecuente es de intenso dolor óseo y artralgias.²

Criptococosis ocular

Es una entidad rara, la mayoría de casos oculares son consecuencia de diseminación del padecimiento. Se presenta generalmente con papiledema, parálisis motora y coriorretinitis. Los casos con edema papilar, casi siempre son consecuencia de la diseminación del cuadro meníngeo, por el aumento de la presión intracraneana.²

Criptococosis diseminada

Se presenta en pacientes severamente inmunosuprimidos o en estados *pre mortem*. *C. neoformans* puede invadir prácticamente todos los órganos, sobresaliendo hígado, intestino, bazo, corazón, testículos, etc.; en todos los niveles se observan lesiones granulomatosas y de aspecto gelatinoso.²

Es fundamental mencionar que, al igual que *Blastomyces* y *Mycobacterium tuberculosis*, *C. neoformans* puede invadir la glándula prostática, aunque en la mayoría de los casos de la infección criptocócica esta afectación es asintomática. De hecho, la infección prostática asintomática o saliente puede identificarse por primera vez durante la cirugía urológica y puede diseminarse al torrente sanguíneo durante la misma.¹⁷

Con frecuencia, en el seguimiento de los pacientes con SIDA y meningitis criptocócica después del tratamiento antifúngico inicial, los urocultivos o el líquido seminal fueron positivos para la levadura. En muchos pacientes sigue sin conocerse la localización de la recidiva después del tratamiento, pero la próstata es un lugar evidente que requiere tratamiento prolongado para eliminar la infección en los

pacientes con una inmunosupresión grave. Además de en esta glándula, se han descrito lesiones del pene y de la vulva por *C. neoformans*, pero no hay pruebas del contagio por transmisión sexual de esta levadura. ⁶

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Examen microscópico

El simple procedimiento de mezclar juntos la tinta china (tinta India) y los líquidos biológicos dependiendo del tipo de criptococosis (esputo, lavado bronquial, LCR, exudados, biopsias, etc.) para identificar las levaduras capsuladas de 5-10 μm de diámetro continúa siendo un método rápido y eficaz para el diagnóstico de la meningitis criptocócica (figura 4). ⁶

El examen directo con tinta china, es un método rápido, eficaz y barato para el diagnóstico, este detecta la presencia de levaduras capsuladas cuando se encuentran aproximadamente 10^3 UFL. ¹⁸

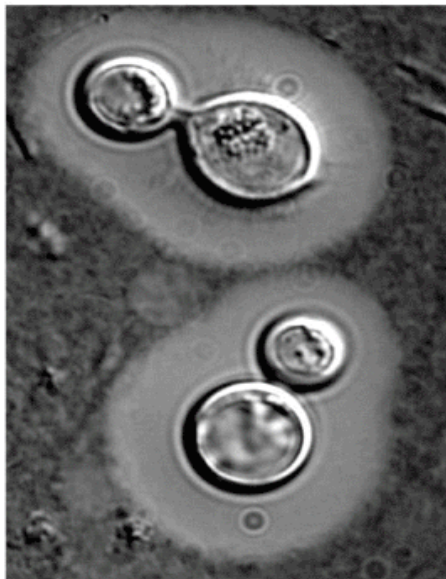


Figura 4. ***C. neoformans*** en una preparación con tinta china.
(Tomada Idnurm A, et al. Nature Reviews Microbiology 2005; **3**: 753-764)

A partir de las muestras se realiza un frotis, se fija al calor y se agrega extendiendo una gota de tinta china (tinta india) o nigrosina; por refringencia con el microscopio se puede observar fácilmente el cuerpo de la levadura y el halo de la cápsula.²

Alrededor del 50% de los pacientes sin SIDA con meningitis criptocócica y más del 80% de los pacientes afectados por el SIDA presentan un examen de tinta china positivo en el LCR. Se precisa experiencia para distinguir una levadura capsulada de un linfocito rodeado de restos proteínicos.⁶

Es importante resaltar que en ocasiones se presentan casos con un discreto halo capsular, o bien sin este (cepas acapsulares), por lo tanto se requiere de aislamiento e identificación mediante pruebas bioquímicas y fisiológicas. Aproximadamente en un 5-10% de los casos se observan pseudohifas similares a las de *Candida sp.*, sin embargo éstas también presentan un halo capsular. Bonifaz A,² refiere que al poner una gota de fucsina básica (de Ziehl-Neelsen) por un minuto y posteriormente teñir de contraste con tinta China; los resultados son buenos, obteniendo el cuerpo de la levadura en color rojo-rosa, rodeado por un halo blanco de cápsula, y el fondo de la preparación en negro (Tinción de Resaltado Capsular).²

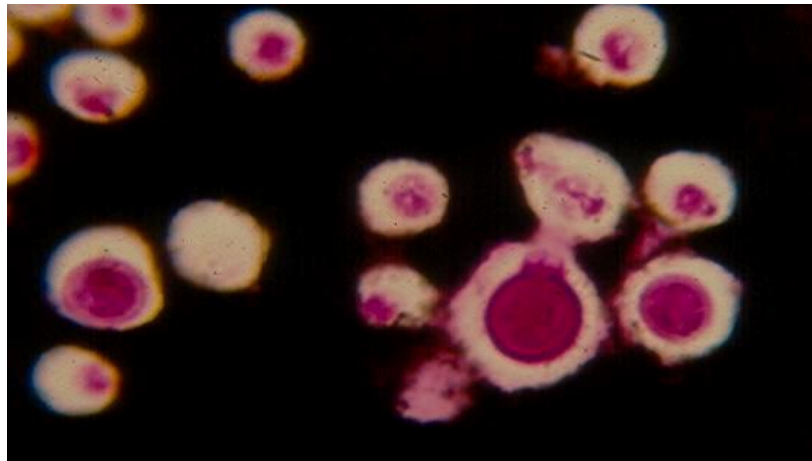


Figura 5. Tinción de Resaltado Capsular (Cortesía de Bonifaz A. ²)

Cuando el número de levaduras es reducido, pueden detectarse en la muestra mediante el blanco de calcoflúor y un microscopio de fluorescencia. Con

las tinciones histopatológicas convencionales, como la hematoxilina y eosina, las levaduras aparecen rodeadas de espacios vacíos, que reflejan la cápsula. La cápsula de polisacáridos puede identificarse mediante tinciones como la de mucicarmín y la de azul de alcián, y su capacidad de producir melanina le permite captar la tinción de Fontana-Masson.

La tinción con metenamina-plata de Gomori identifica la levadura en gemación, y la tinción de Gram suele revelar una levadura G (+) poco teñida.⁶ Son también útiles el Papanicolaou y el hierro coloidal (azul).²

Cultivos

Los medios de cultivo más útiles son Sabouraud, extracto de levadura y BHI agar; nunca debe sembrarse en Agar Dextrosa de Sabouraud con antibióticos (micobiótico o Agar de micosel), porque la cicloheximida (actidione) inhibe a *C. neoformans*. El desarrollo se obtiene de dos a tres días a temperatura ambiente o a 37°C (Tabla 5). Las colonias son limitadas, mucoides, convexas, de color blanco amarillento y dan un aspecto de "leche condensada", raras veces toman un color rosa pálido. Al microscopio se observan levaduras de aproximadamente 5 a 10µm de diámetro con blastoconidios de la mitad de su tamaño, ambas con todo y la cápsula llegan a medir hasta 20 µm de diámetro (Figura 4).²

Un medio de cultivo selectivo para *C. neoformans*, es el medio de Agar de Staib (23), que tiene DOPA (dihidroxi-fenilalanina), este metabolito lo contienen también las semillas de "niger" o "alpiste negro" (*Guizotia abyssinica*), en ambos medios el microorganismo genera colonias con pigmentos café-marrón, que se distinguen de otros géneros y especies (Figura 6).²

Tabla 5. Características de los principales especies de *Cryptococcus* (Tomada de Bonifaz A.²)

Propiedades	<i>C. neoformans</i>	<i>C. gattii</i>	<i>C. uniguttulatus</i>	<i>C. albidus</i>	<i>C. laurentii</i>	<i>C. gastricus</i>
Producción de ureasa	+	+	+	+	+	+

Crecimiento a 37° C	+	+	±	+	+	-
Crecimiento a 40° C	+	+	-	-	-	-
Utilización de nitratos (KNO ₃)	-	-	-	+	-	-
Medio canavanina glicina azul de bromotimol	-	+	-	-	-	-
Pigmento en medio de Agar de Alpiste Negro	+	+	-	-	-	-
Formación de cápsula	+	+	+	+	+	+



Figura 6. Crecimiento en medio de cultivo alpiste negro y Sabouraud (Cortesía de Bonifaz A. ²)

La identificación de las variedades de *C. neoformans* puede realizarse por varios métodos:

1. Una reacción colorida en agar con canavanina glicina-azul de bromotimol (CBG), que distingue los serotipos A, D y AD de los B y C.
2. Un equipo de anticuerpos para serotipificación.
3. La huella genética. ⁶

La prueba bioquímica CBG se fundamenta en la particularidad que presenta *C. gattii* de ser resistente a la L-canavanina (aminoácido natural estructuralmente

similar a la L-arginina), el cual es degradado por las cepas de esta variedad, liberando amonio como producto final. El amonio en el medio eleva el pH del mismo, que pasa de 5.8 a 7 o más, variando el color del medio de amarillo verdoso a azul cobalto, por la presencia de azul de bromotimol. La L-canavanina inhibe el crecimiento de *C. neoformans* var. *neoformans*.

El 60% de las cepas de *C. neoformans* var. *neoformans* serotipo A, son resistentes a la L-canavanina, pero no asimilan la glicina presente en el medio.

De esta manera se inhibe el crecimiento del 100% de las cepas pertenecientes a *C. neoformans* var. *neoformans*, permaneciendo sin cambio de color del medio de cultivo (Figura 7).¹⁹



Figura 7. Diferenciación bioquímica de *C. gattii* (izquierda), *C. neoformans* var. *neoformans* (derecha), mediante el uso de agar canavanina glicina azul de bromotimol (CGB). (Tomada de Kwon-Chung KJ, Polacheck I, Bennett JE¹⁹)

Pruebas Inmunológicas

Se han probado muchas y muy diversas, ninguna da resultados satisfactorios en su totalidad. La prueba más útil para el diagnóstico es la determinación antígeno criptocócico (en LCR o suero) por aglutinación directa de partículas de látex revestidas por anticuerpos anticápsula (**DACAD**) (Figura 8), esta se puede realizar en prácticamente todos los fluidos y tiene una sensibilidad muy alta (>90%)^{13,14}, y es importante citar que se pueden presentar cruces inmunológicos con el factor

reumatoide, el cual puede ser eliminado por quelación (EDTA) o con enzimas como pronasa; también cruza con infecciones por *Trichosporon sp.* Actualmente esta técnica se encuentra en forma monoclonal comercial, y se puede usar rutinariamente para el diagnóstico, así como para monitoreo terapéutico (por titulación).^{2,24}

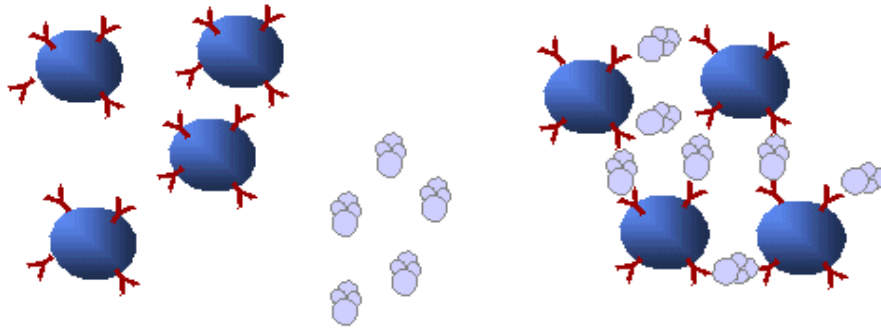


Figura 8. Aglutinación de partículas de látex (tomada de <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap19.asp>)

Otras técnicas de menor importancia son: la detección de anticuerpos por inmunofluorescencia indirecta (IFA), ELISA y fijación de complemento. Es importante remarcar que todas las técnicas inmunológicas pueden generar falsos positivos y negativos; por lo que los resultados deben correlacionarse con los aspectos micológicos (cultivo y observación directa). El uso del antígeno capsular como IDR no tiene valor diagnóstico ni epidemiológico (primo-contacto), porque se han reportado diversos cruces inmunológicos. Actualmente es importante la utilización de técnicas de PCR, para la confirmación de algunos casos, así como de la tipificación de las variedades, su sensibilidad es de más del 95%.²

Es importante citar que se han observado algunos casos de criptococosis meníngea en pacientes con VIH/SIDA, donde *C. neoformans* no genera cápsula en LCR, e incluso forma algunas estructuras de pseudomicelio, pese a que la especie haya sido corroborada y se obtengan levaduras capsuladas de resiembra en los medios de cultivo y en LCR normal.²

Radiología

La radiología es de gran utilidad en los casos pulmonares y meníngeos ², en los últimos se deben considerar tres puntos fundamentales:

1. No hay una imagen patognomónica
2. En los pacientes con SIDA las lesiones parenquimatosas pueden representar un linfoma o una infección secundaria, como la toxoplasmosis o la nocardiosis.
3. Las imágenes de seguimiento pueden mostrar un empeoramiento de las lesiones, con crecimiento, aparición de nuevas lesiones, o persistencia de los criptocomas. ⁶

TRATAMIENTO

El tratamiento de la criptococosis ha sido el tema principal de una serie de estudios basados en la evidencia.

La criptococosis meníngea es una importante causa de morbimortalidad en sujetos inmunocomprometidos especialmente en los pacientes con SIDA, por lo tanto el iniciar el tratamiento antifúngico lo más pronto posible es fundamental. La mortalidad de esta entidad con tratamiento es del (10 al 25% ¹⁸), reportándose mortalidades tan bajas del (6%) en algunos casos con tratamiento óptimo. ²

El tratamiento de elección es a base de anfotericina B, se administra por vía endovenosa a dosis de 0.7 a 1mg/Kg/día. En general se administra aumentando la dosis de manera paulatina, dependiendo sobre todo de la función renal. Son importantes las indicaciones inherentes al fármaco por su elevada toxicidad. En los casos meníngeos de poca respuesta se puede administrar la forma intratecal, y es recomendable no sobrepasar la dosis diaria de 1mg/Kg. ⁽²⁵⁾

Con la anfotericina B lipídica se reportan mejores resultados, y menores efectos colaterales, la dosis recomendada es de 5mg/Kg/día, con un rango de 3-6mg/Kg/día; con la anfotericina B liposomal la dosis estándar es de 3mg/Kg/día, con un rango de 3-5mg/Kg/día y para la anfotericina B de dispersión coloidal (Complejo colesteril-sulfato) la dosis es de 3-4mg/Kg/día. El tiempo de tratamiento es variable,

la mayoría de autores recomienda de 6-12 semanas y posteriormente dejar una terapia de mantenimiento (azólico). Es importante remarcar que en la mayoría de casos se recomienda una terapia combinada con algún otro fármaco (Tabla 6).²⁵

Otro de los fármacos que se ha empleado con resultados satisfactorios es la 5-fluorocitosina (5-FC) a dosis de 150mg/Kg/día por vía oral, sin embargo muchas cepas adquieren resistencia con facilidad. Se pueden administrar ambos fármacos, con mejores resultados.²⁹

Los derivados azólicos que se pueden emplear son: ketoconazol, a dosis de 400mg/día, sin embargo es un medicamento poco empleado por sus probables efectos hepatotóxicos. El itraconazol se emplea a dosis de 200-400mg/día. Ambos fármacos son útiles en casos pulmonares o cutáneos puros; sin embargo ambos atraviesan lentamente la barrera hematoencefálica, por lo que no se recomiendan inicialmente para los casos de criptococosis del SNC. En estudios recientes se ha comprobado que el itraconazol es tan efectivo como el fluconazol en terapia de mantenimiento a largo plazo, una vez que se ha dado de inicio anfotericina B sola o combinada.^{2,27}

El fluconazol es un triazol que tiene un buen efecto contra *C. neoformans* y *C. gattii*, además es un fármaco que atraviesa rápidamente la barrera hematoencefálica y provoca pocos efectos secundarios, su dosis de administración fluctúa entre 150-400mg/día, por vía oral, sin embargo sus mejores resultados terapéuticos se obtienen al combinarlo con anfotericina B o con 5-FC.²⁷

Otro de sus usos es como terapia de sostén una vez que se ha retirado la anfotericina B (sola o combinada); en algunos casos agudos se puede emplear la forma intravenosa.²⁵

Los recientes derivados azólicos: voriconazol y posaconazol han comprobado tener buena acción *in vitro*, con el primero hay algunos reportes de su uso a dosis de 7mg/Kg/día y con el segundo no existen reportes de su uso clínico.^{26,28} Es

importante remarcar que el éxito terapéutico dependerá en gran medida de la rapidez con la que se establezca el diagnóstico y del estado del paciente. ²

El tiempo de terapia es variable y puede fluctuar entre 4 a 6 meses y en algunos casos hasta un año, teniendo un alto índice de recidivas, por lo que muchos autores recomiendan se mantengan dosis de fluconazol, para evitarlas. Es importante citar que a nivel prostático la infección puede persistir de forma subclínica y es un posterior foco de reinfección. ²

Tabla 6. **Tratamiento de la criptococosis.** (Tomada de AIDS THERAPHY, Third Edition. Churchill Livingstone Elsevier 2008 ²⁹)

AGENTE	DOSIS	EFFECTOS SECUNDARIOS	INTERACCIONES	COMENTARIOS
Anfotericina B	<u>Dexocicolato</u> 0,7 mg Kg. Día <u>Liposomal</u> 3-6 mg Kg. Día <u>Complejo lipídico</u> 5 mg Kg. Día	Hipersensibilidad Fiebre Hipotensión Nauseas Vómito Hipokalemia Nefropatía	Aminoglucósidos Pentamidina Foscarnet Cidofovir	
Fluocitosina	25 mg Kg cada 6h	Síntomas gastrointestinales Supresión en médula ósea	Medicamentos nefrotóxicos	Requiere ajuste de dosis según función renal
Fluconazol	400 mg día en fase aguda, 200 mg día en fase de mantenimiento	Nauseas Rash Hepatitis	Rifabutina Rifampicina Nevirapina	
Itraconazol	200-400 mg cada 12 horas vía oral	Nauseas , dolor abdominal , rash cefalea , edema hipokalemia	Rifampicina Ritonavir Fenobarbital Antisecretores Indinavir Ciclosporina	

			Digoxina Fenitoína	
--	--	--	-----------------------	--

2.3 Justificación.

Los pacientes inmunosuprimidos, especialmente aquellos con VIH/SIDA, tienen una alta incidencia de infecciones oportunistas. La criptococosis es actualmente una de las infecciones fúngicas más frecuente que amenaza la vida en pacientes con VIH.

Antes de la epidemia de VIH, la infección criptocócica era una infección fúngica sistémica rara, ocurría principalmente en pacientes con daño inmunológico, es decir, aquéllos que tenían problemas hematológicos, trasplantes, uso de corticoterapia y otros tratamientos inmunosupresores. Un estudio elaborado por Hajjeh RA, y cols.,³⁰ mostró que la incidencia de criptococosis en los pacientes que no padecían de SIDA era aproximadamente 0.2 a 0.8 por 1 000 000 de personas, dependiendo de la zona geográfica. Sin embargo, durante las últimas dos décadas de la epidemia del VIH, la incidencia de criptococosis aumentó dramáticamente, asociándola a más del 80% de casos en el mundo.¹

Los datos más recientes indican que este padecimiento afecta entre el 6-10% de los pacientes con SIDA y que en regiones como el sureste asiático y África, puede alcanzar hasta el 30%.^{2,12} El diagnosticar esta enfermedad oportunamente e iniciar el tratamiento antimicótico adecuado es sumamente importante para los pacientes.

2.4 Objetivos

2.4.1 Objetivo particular

- Conocer la sensibilidad de los métodos de diagnóstico empleados en el laboratorio de Micología del Hospital General de México en la detección de criptococosis meníngea desde enero de 2003 a enero de 2009.

2.4.2 Objetivos secundarios

- Describir los hallazgos clínicos y micológicos de 70 casos de criptococosis meníngea diagnosticados desde enero de 2003 a enero de 2009.
- Identificar el principal agente etiológico de criptococosis meníngea en el Hospital General de México OD.
- Conocer la sensibilidad del examen directo con la tinción de tinta china.
- Conocer la sensibilidad de la Tinción de Resaltado Capsular (TRC).
- Determinar la sensibilidad del crecimiento de *Cryptococcus neoformans* en los medios de cultivo Agar Dextrosa de Sabouraud y Agar de Alpiste negro (medio de Staib).
- Obtener la sensibilidad del método de Determinación de Antígeno Criptocócico por aglutinación de partículas de látex revestidas por anticuerpos anticápsula (DACAD).
- Conocer la utilidad de los métodos de diagnóstico empleados en la detección de criptococosis meníngea para la pronta elección del tratamiento adecuado.

3. Material y Métodos.

3.1 Tipo de estudio

Se realizó un estudio ambispectivo, observacional, descriptivo, durante enero de 2003 a enero de 2009 en el laboratorio de Micología del Hospital General de México OD.

3.2 Definición del universo de estudio

Pacientes atendidos en el Hospital General de México OD con diagnóstico de criptococosis meníngea desde enero de 2003 a enero de 2009.

3.3 Criterios de inclusión

- Pacientes que ingresaron al Hospital General de México OD con diagnóstico de criptococosis meníngea.
- Que ingresaron desde enero de 2003 a enero de 2009.
- Hombres y mujeres.
- De cualquier edad.
- Que cuenten con diagnóstico micológico.
- De cualquier lugar de procedencia.

3.4 Criterios de exclusión

- Pacientes que no hayan sido atendidos en el Hospital General de México OD.
- Que el diagnóstico de criptococosis meníngea no haya sido confirmado con el diagnóstico micológico del laboratorio de Micología del Hospital General de México OD.

3.5 Criterios de eliminación

- Pacientes que no hayan sido diagnosticados con criptococosis meníngea.

3.6 Selección de las fuentes, métodos, técnicas y procedimientos

Los datos requeridos para elaborar el presente estudio se obtuvieron mediante revisión de los expedientes de los pacientes.

Las pruebas de diagnóstico micológico se realizaron a partir de muestras biológicas de los pacientes (LCR) en el laboratorio de Micología, mismas que se describen a continuación:

- Examen directo con tinta china
- Tinción de Resaltado Capsular
- Cultivos en Agar Dextrosa de Sabouraud
- Cultivos en Agar de Alpiste Negro
- DACAD monoclonal
- DACAD policlonal

3.7 Definición del plan de procesamiento y presentación de la información

Una vez recolectada la información, se vertió en una base de datos diseñada para este propósito utilizando el software Microsoft Office Excel 2007 para su posterior análisis.

3.8 Aspectos éticos

Según la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, el estudio que se llevó a cabo no implica ningún riesgo para los pacientes, ya que no se realizó ninguna modificación intencionada de las variables fisiológicas, psicológicas y/o sociales de los individuos que participaron en el estudio. Además, se tuvo absoluta discreción en cuanto a la información contenida en los expedientes de los pacientes; protegiendo siempre la privacidad del individuo.

1. Resultados

En el periodo comprendido de enero del 2003 a enero de 2009, se diagnosticaron 70 casos de criptococosis meníngea. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla 7. Criptococosis meníngea en el Hospital General de México; Datos clínicos.

Total de casos	Sexo		Diagnóstico de VIH		Año de diagnóstico de criptococosis							Mortalidad	
	Femenino	Masculino	(+)	(-)	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	Vivos	Muertos
	70	6	64	63	7	4	13	10	9	15	18	1	35
%	8.6	91.4	90	10	5.7	18.6	14.3	12.9	21.4	25.7	1.4	50	50

Tabla 8. Criptococosis meníngea en el Hospital General de México; Lugar de procedencia.

Total de casos	Lugar de procedencia						
	Distrito Federal	Estado de México	Oaxaca	Veracruz	Puebla	EUA	Hidalgo
70	42	23	1	1	1	1	1
%	60	32.9	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4

Gráfico 1. Influencia del sexo en la criptococosis meníngea.

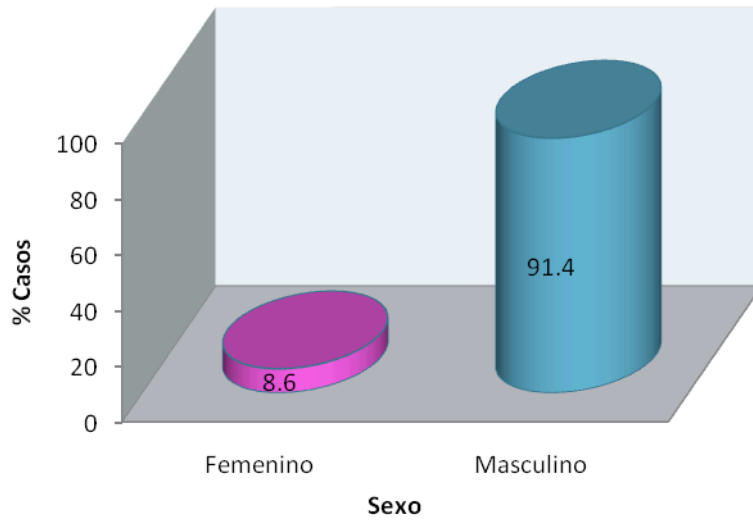


Gráfico 2. Diagnóstico de VIH asociado.

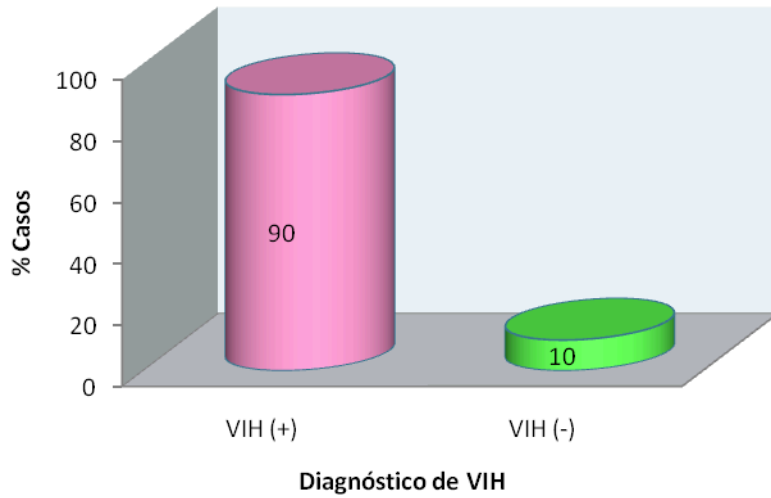


Gráfico 3. Año de diagnóstico de criptococosis meníngea en el Hospital General de México OD.

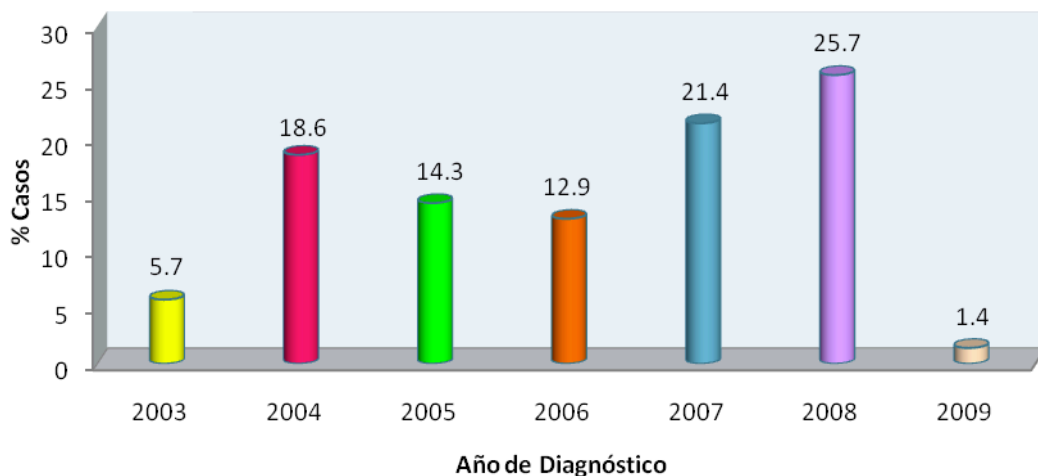


Gráfico 4. Mortalidad en la criptococosis meníngea.

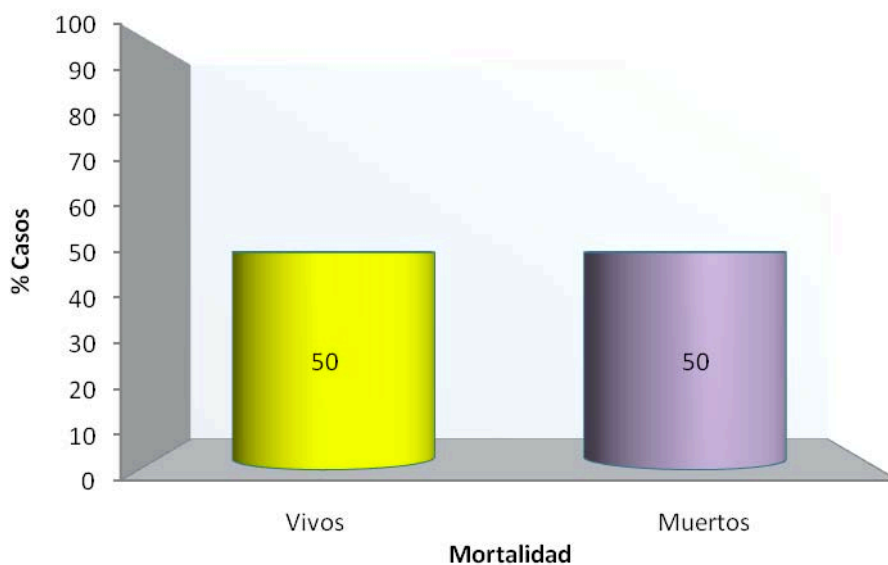


Tabla 9. Criptococosis meníngea en el Hospital General de México OD; Factores etiológicos.

Especie	# de Casos	Total de casos: 70	
		%	
<i>Cryptococcus neoformans var. neoformans</i>	67	95.7	
<i>Cryptococcus neoformans sp</i>	2	2.9	
<i>Cryptococcus gattii</i>	1	1.4	

Gráfico 5. Criptococosis meníngea en el Hospital General de México OD; Factores etiológicos.

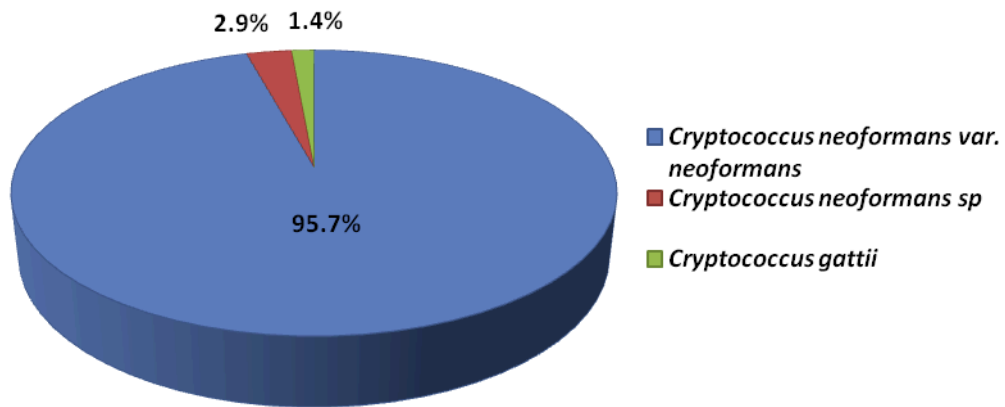
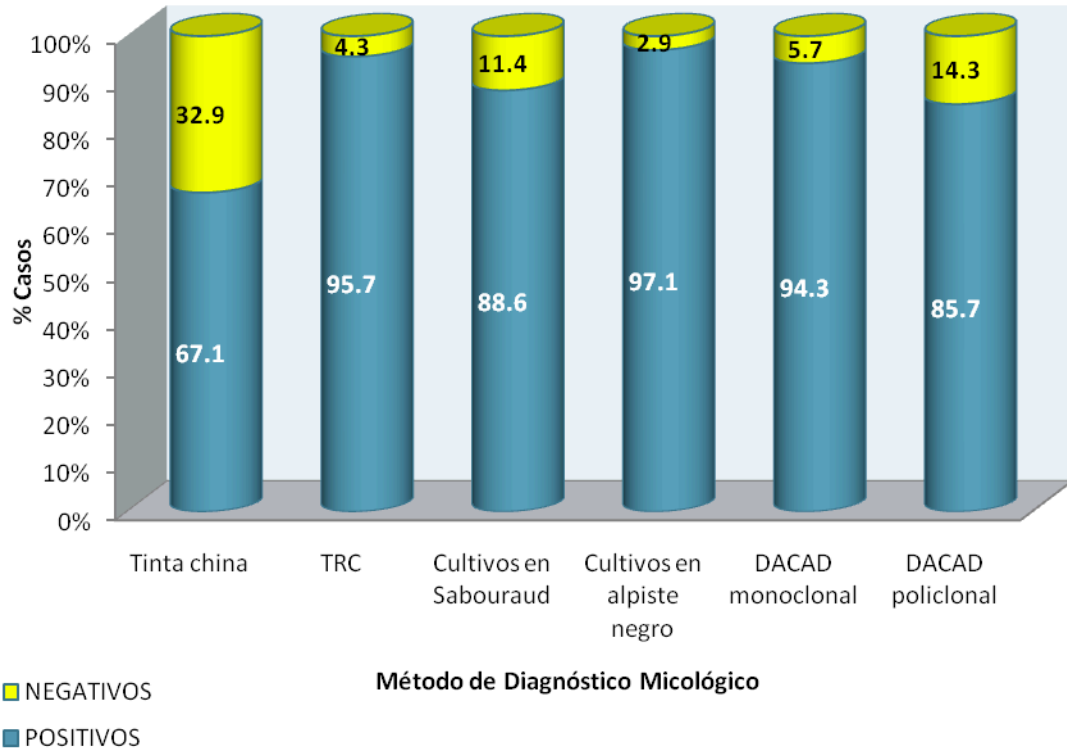


Tabla 10. Criptococosis meníngea en el Hospital General de México OD; Datos de Diagnóstico Micológico.

Prueba diagnóstica	Positivos (+)	Negativos (-)	Total de casos: 70	
			% (+)	% (-)
Tinta china	47	23	67.1	32.9
TRC	67	3	95.7	4.3
Cultivos en Agar Dextrosa de Sabouraud	62	8	88.6	11.4
Cultivos en Agar de Alpiste Negro	68	2	97.1	2.9
DACAD monoclonal	66	4	94.3	5.7
DACAD policlonal	60	10	85.7	14.3

Gráfico 6. Criptococosis meníngea en el Hospital General de México OD; Datos de Diagnóstico Micológico.



2. Discusión

En este estudio se incluyeron 70 casos de criptococosis meníngea diagnosticados en el Hospital General de México OD durante el periodo de tiempo transcurrido de enero de 2003 a enero de 2009.

La edad promedio fue de **35** años, con una máxima de 69 y una mínima de 19 años, lo que indica que la enfermedad se presenta mayormente a partir de la tercera década de la vida, lo cual es comparable con estudios realizados en Argentina²⁰ y Colombia²¹, sin embargo, puede ocurrir a cualquier edad, existen reportes de casos en niños y en edades avanzadas.^{2,6}

La criptococosis meníngea se asocia en un **91.4%** al sexo masculino y un **8.6%** al sexo femenino (gráfico 1). El predominio masculino sobre el femenino encontrado en este estudio, coincide con lo observado en EUA antes de la era del

VIH/SIDA. En aquella década, la criptococosis ocurrió aproximadamente 3 veces más en los varones que en las mujeres. La criptococosis meníngea ha sido ligada a la infección por VIH, sin embargo, a finales de 2007, en la estadística mundial de VIH/SIDA, las mujeres representan el 50% (de aproximadamente 33 millones de casos) de los adultos que viven con este padecimiento. Actualmente, en EUA el mismo porcentaje de cada sexo, es infectado por *C. neoformans*, lo cual no coincide con nuestro estudio, en el que el predominio está en el sexo masculino.
38, 39

Con respecto a la relación de criptococosis meníngea y VIH/SIDA (gráfico 2), el **90%** fueron VIH positivos y **10%** VIH negativos, lo que convierte al VIH/SIDA en el principal factor de riesgo para presentar criptococosis meníngea, como ha sido reportado en otros estudios, la incidencia de la infección criptococócica en pacientes con VIH/SIDA ha sido estimada en 6% a 15% en EUA, Europa occidental y Australia, sin embargo, en África ocurre en 15% a 30%.^{31,40}

Durante el periodo de tiempo comprendido en este estudio, el diagnóstico de criptococosis meníngea fue mayor en el año 2008 (gráfico 3), el año 2009 es despreciable y no se puede comparar debido a que sólo se incluyó el mes de enero, por tanto, se considera al año 2003 como el año con menor incidencia de diagnóstico de la enfermedad. La tendencia del gráfico 3, muestra que el número de casos de criptococosis meníngea ha ido incrementando con respecto al tiempo, sin duda, si se hubiera concluido el año 2009, habríamos obtenido un resultado comparable con 2008 o incluso mayor.

Es importante mencionar que la introducción de la terapia HAART ha hecho que los casos de criptococosis disminuyan y a su vez, el impacto de la infección, al igual que en otras infecciones oportunistas.^{34, 41}

Del total de casos, el **60%** fueron procedentes del Distrito Federal, **32.9%** del Estado de México y alrededor de **7%** fueron procedentes de otros lugares

(Oaxaca, Veracruz, Puebla, Hidalgo y EUA). Lo anterior muestra que esta es una enfermedad cosmopolita,^{1, 2, 6} y es válido cuando el agente etiológico es *C. neoformans*, debido a que se considera oportunista y de distribución mundial; sin embargo, tuvimos un caso en el que el agente etiológico fue *C. gattii*, y como sabemos, esta variedad es endémica de regiones tropicales y subtropicales. López Martínez R. y cols.⁴² presentaron un estudio en el que reportan 20 casos de criptococosis meníngea, 6 de ellos fueron causados por *C. gattii*, 3 casos provenientes del Distrito Federal (zona templada) y los otros 3, provenientes de otros Estados de zonas tropicales y subtropicales. Lo anterior pone de manifiesto que se debe plantear la búsqueda de reservorios para *C. gattii* en nuestro país, al igual que estudios de tipo epidemiológico para conocer su distribución actual. A pesar de que los casos de criptococosis meníngea causados por *C. gattii* son poco frecuentes, se debe tener la capacidad para su correcta identificación, haciendo uso de los datos clínico-epidemiológicos de cada caso, incluso tomar medidas para limitar la exposición a este hongo.

La mortalidad fue del **50%** (gráfico 4), misma que es comparable con lo descrito por Lindenberg A, et al.³² y Góngora F.³³ Nuestros resultados también coinciden con el estudio elaborado por Park BJ y cols, en el que se muestra la incidencia de mortalidad por criptococosis meníngea en distintas regiones como África, Asia, Oceanía, Europa, América del Norte, el Caribe, etc. En cuanto a América Latina, la mortalidad fue de 29.9 (de una incidencia de 54.4 casos de criptococosis meníngea) por cada 1000 fallecimientos.⁴¹

Por otra parte, los resultados del diagnóstico micológico (gráfico 6) mostraron lo siguiente: el examen directo con tinta china muestra la sensibilidad más baja; **67.1%**, comparada con las demás pruebas diagnósticas, la ventaja es la rapidez con la que se realiza, (2 minutos aproximadamente) y el bajo costo, sin embargo, puede dar falsos positivos con células polimorfonucleares presentes en la muestra. La Tinción de Resaltado Capsular mostró una sensibilidad muy buena; **95.7%**, comparada con la tinta china, y la única diferencia que existe entre

estas dos pruebas son unos cuantos minutos (10 minutos aproximadamente) y el uso de un colorante extra (fucsina básica). Ambas pruebas se utilizan para el diagnóstico rápido de la enfermedad, pero es totalmente necesario confirmar el diagnóstico con los cultivos u otras pruebas, como la identificación de la cepa por medios bioquímicos (auxonograma y zimograma). En cuanto a los cultivos, el estándar de oro sigue siendo el crecimiento de la levadura en medios de agar de alpiste negro, como se observó en este estudio y es comparable con lo presentado por Bonifaz A, et al.^{35, 36} obteniéndose una sensibilidad de **97.1%**, a diferencia del crecimiento en medio de cultivo Agar Dextrosa de Sabouraud con **88.6%**.

El principal agente etiológico aislado en el laboratorio de Micología del Hospital General OD fue *C. neoformans* var. *neoformans* en un porcentaje de **95.7%**, a su vez, *C. neoformans* spp. en un **2.9%** y *C. gattii* en un **1.4%** (gráfico 5). En nuestro país, en años anteriores se ha estudiado la prevalencia y etiología de la criptococosis. En un estudio con 380 pacientes VIH/SIDA positivos atendidos en el Hospital Centro Médico “La Raza” del IMSS (de 1984 a 1988), hubo 23 casos de criptococosis, la sensibilidad de los métodos diagnóstico empleados fue de 95.6% por cultivos y 78.3% por examen directo con tinta china,⁵³ mismo que es comparable con nuestros resultados.

En una ampliación del estudio mencionado, se observó que en el lapso de 1980 a 1987 hubo 2121 casos de meningitis, de los cuales, sólo el 0.6 % (13 casos) fueron causados por *C. neoformans*. De 1988 a 1995 hubo 1096 pacientes con meningitis y el 15.5% (170 casos) fueron causados por *C. neoformans*, es decir, en el segundo periodo hubo un incremento significativo de 12.2 veces en comparación con el periodo anterior, mismo que se asocia al SIDA.^{54, 55}

Un comentario especial amerita el aislamiento de *C. gattii*, en uno de los 70 casos, la identificación fue confirmada por el CBS, Utrecht, Holanda. Se trató de un paciente de sexo femenino de 28 años de edad, procedente del Distrito Federal, con diagnóstico de VIH negativo, coincidiendo con los casos que he mencionado anteriormente reportados por López R. y cols.⁴² También es

comparable con datos obtenidos en otras regiones del mundo como América del Sur, en donde se ha informado el aislamiento de *C. gattii* en pacientes VIH negativos,^{20, 21,43} en España, un caso reportado de una mujer de 60 años VIH negativo en el año 2003.⁴⁵ En contraste, esta levadura ha sido aislada excepcionalmente de pacientes VIH positivos en otras regiones no endémicas: Zaire⁴⁷, Canadá⁴⁸, EUA⁴⁹ y Brasil⁵⁰, Argentina⁵¹, pero su distribución puede ser relacionada al medio ambiente, teniendo como fuente a las variedades *Eucalyptus camaldulensis* y *E. Tereticornis*, que como es sabido, estos árboles fueron exportados a otras áreas del mundo, por tanto es preciso decir que estos árboles pueden ser un vector infeccioso. El brote ocurrido en Vancouver (Columbia Británica) sugiere que otros árboles, como los abetos, los arces y los robles, también pueden representar un nicho ecológico para *C. gattii*.⁵²

Por otra parte, las pruebas inmunológicas para el diagnóstico de criptococosis meníngea mostraron una sensibilidad de 94.3% y 85.7% (DACAD monoclonal y policlonal respectivamente) lo cual sugiere que la cuantificación de antígeno criptococócico es muy sensible en ambos casos, obteniéndose mejores resultados con anticuerpos monoclonales, lo anterior es comparable con lo obtenido por Bonifaz A, et al.³⁷

No existe una prueba de diagnóstico micológico que nos proporcione el 100% de sensibilidad, sin embargo, pueden ser complementarias para favorecer el diagnóstico efectivo en el menor tiempo posible.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio son de gran utilidad ya que es una muestra de la situación de criptococosis meníngea en México y comprende un periodo de tiempo (2003-2009) que aún no se han realizado o publicado a la fecha en nuestro país.

6. Conclusiones.

- La meningitis criptocócica es una enfermedad producida por levaduras oportunistas con una mortalidad alta en pacientes inmunocomprometidos especialmente en pacientes VIH SIDA, siendo este último, el factor de riesgo principal para presentar la enfermedad.
- La criptococosis meníngea es una enfermedad cosmopolita.
- *Cryptococcus neoformans var neoformans* es el principal agente etiológico aislado y es comparable a otros autores.
- *Cryptococcus gattii* representa un foco de atención debido a los aislamientos en otras regiones del mundo no endémicas del hongo.
- El estándar de oro para el diagnóstico de criptococosis sigue siendo el crecimiento en cultivos de agar de alpiste negro o medios de cultivo con sustratos basales de formación de melanina (L-DOPA).
- La TRC ofrece grandes ventajas para el diagnóstico de criptococosis comparada con la tinta china, a pesar de que se requiere mayor tiempo para realizarla. El examen directo con tinta china genera falsos positivos por la presencia de células polimorfonucleares presentes en la muestra, la ventaja es que es muy barato y rápido.
- Las pruebas inmunológicas muestran una sensibilidad alta, permiten hacer la detección oportuna a baja cantidad de levadura, sin embargo, no funcionan en casos en los que la levadura se encuentra sin cápsula debido al grado de inmunosupresión del paciente. Una ventaja es que permiten el monitoreo terapéutico.
- Una sola prueba diagnóstica no basta, todas son complementarias para el diagnóstico eficaz y oportuno.

7. Bibliografía.

- (1) Chayakulkeeree M, Perfect JR, Cryptococcosis. *Infect Dis Clin N Am* 2006; **20**: 507-544.
- (2) Bonifaz A. Criptococosis (Cap. 22), en: *Micología Médica Básica*. McGraw-Hill Ed. México D. F. 2009; 303-316.
- (3) Lin X, Heltman J. The biology of the *Cryptococcus neoformans* species complex. *Annu Rev Microbiol* 2006; **60**: 69-105.
- (4) Casadevall A, Perfect JR. *Cryptococcus neoformans*. Washington, DC. ASM Press, 1998.
- (5) Benham RW, Cryptococcosis and blastomycosis. *Ann N Y Acad Sci* 1950; **50**: 1299-1314.
- (6) Perfect JR. *Cryptococcus neoformans*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases, Vol. 2 6th edition. Philadelphia. *Elsevier Churchill Livingstone* 2005; 2997-3012.
- (7) Escandón P, Quintero E, Granados D, et al. Aislamiento de *Cryptococcus gattii* serotipo B a partir de detritos de *Eucalyptus* spp en Colombia. *Biomédica* 2005; **25**: 390-397.
- (8) Nielsen K, De Obaldia AL and Heitman J. *Cryptococcus neoformans* Mates on Pigeon Guano: Implications for the Realized Ecological Niche and Globalization. *Eucaryotic Cell* 2007; **6**: 949–959.
- (9) Emmons CW. Saprophytic sources of associated with the pigeon. *Am J Hyg* 1955; **62**: 227-232.

- (10) Bovers M, Diaz MR, Hagen F, *et al.* Identification of Genotypically Diverse *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* isolates by Luminex xMAP Technology. *J. Clin. Microbiol* 2007; **6**: 1874-1883.
- (11) Steenbergen JN, Shuman HA, Casadevall A. *Cryptococcus neoformans* interactions with amoebae suggest an explanation for its virulence and intracellular pathogenic strategy in macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 15245-50.
- (12) Steenbergen JN, Casadevall A, The origin and maintenance of virulence for the human pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. *Microbes and Infection* 2003; **5**: 667-675.
- (13) Kauffman CA, Bergman AG, Severance PJ, *et al.* Detection of cryptococcal antigen. Comparison of two latex agglutination test. *Am J Clin Pathol* 1981; **75**: 106-109.
- (14) Powderly WG, Cloud GA, Dismukes WE, *et al.* Measurement of cryptococcal antigen in serum and cerebrospinal fluid: Value in the Management of AIDS associated cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis* 1994; **18**: 789-792.
- (15) Perfect JR, Casadevall A. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North Am* 2002; **16**: 837–874.
- (16) Castañón-Olivares LR, Arreguin -Espinoza R, Ruiz-Palacios Y, Santos G. & Lopez-Martinez R. Frequency of *Cryptococcus* species and varieties in México and their comparison with some Latin American countries. *Rev Lat Amer Microbiol* 2000; **42**: 35-40.
- (17) Plinkett JM, Turner BI, Tallent MB. Cryptococcal septicemia associated with urologic instrumentation in a renal allograft recipient. *J Urol* 198; **125**: 241-242.

- (18) Jenny-Avital ER, Abadi M. Immune reconstitution cryptococcosis after initiation of successful highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2002; **35**: 128–133.
- (19) Kwon-Chung KJ, Polacheck I, Bennett JE. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A y D) *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B y C). *J Clin Microbiol* 1982; **15**: 535-537.
- (20) Ordóñez N, Castañeda E. Serotipificación de aislamientos clínicos y del medio ambiente de *Cryptococcus neoformans* en Colombia. *Biomed* 1994; **14**: 131-139.
- (21) Bava AJ y col. Estudio de algunos aspectos epidemiológicos de 253 casos de criptococcosis. *Rev Iberoam Micol* 1997; **14**: 111-114.
- (22) Friedman GD, Fessel WJ, Udatsova NV, Hurley LB, Cryptococcosis: the 1981-2000 epidemic. *Mycoses* 2005; **48**: 122-125.
- (23) Staib F, Blisse A. Bird manure filtrate agar for the formation of the perfect state of *Cryptococcus neoformans*, *Filobasidiella neoformans*. A comparative study of the agars prepared from pigeon and canary manure. *Zentralbl. Bacteriol Microbiol Hyg* 1982; **251**: 554–562.
- (24) Casadevall A. Characterization of murine monoclonal antibody to *Cryptococcus neoformans* polysaccharide that is a candidate for human therapeutic studies. *Antimicrob Agents Chemotherapy* 1998; **42**: 1437-1446.
- (25) Saag MS, Powderly WG, Cloud GA, et al. Comparison of amphotericin B with fluconazole in the treatment of acute AIDS-associated cryptococcal meningitis.

The NIAID Mycoses Study Group and the AIDS Clinical Trials Group. *N Engl J Med* 1992; **326**: 83–89.

(26) Pitisuttithum P, Negroni R, Graybill JR, et al. Activity of posaconazole in the treatment of central nervous system fungal infections. *J Antimicrob Chemother* 2005; **56**: 745–55.

(27) Stern JJ, Hartman BJ, Sharkey P, et al. Oral fluconazole therapy for patients with AIDS and cryptococcosis. *Am J Med* 1988; **85**: 477-480.

(28) Mavrogiorgos N, Zaragoza O, Casadevall A, Nosanchuk JD. Efficacy of voriconazole in experimental *Cryptococcus neoformans* infection. *Mycopathologia* 2006; **162**: 111-114.

(29) Dolin R, Mansur H, Saag M, AIDS THERAPY, Third Edition. *Churchill Livingstone Elsevier* 2008; 765-780.

(30) Hajjeh RA, Conn LA, Stephens DS, et al. Cryptococcosis: population-based multistate active surveillance and risk factors in human immunodeficiency virus-infected persons. Cryptococcal Active Surveillance Group. *J Infect Dis* 1999; **179**: 449–454.

(31) Dismukes WE. Cryptococcal meningitis in patients with AIDS. *J Infect Dis* 1988; **157**: 624-628.

(32) Lindenberg A, Chang M, Paniago A, et al. Clinical and epidemiological features of 123 cases of cryptococcosis in mato grosso do sul, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2008; **50**: 75-78.

- (33) Góngora-Rivera F, Santos-Zambrano J, Moreno T. The Clinical Spectrum of Neurological Manifestations in AIDS Patients in Mexico. *Arch Med Res* 2000; **31**: 393-398.
- (34) Braitstein P, Brinkhof MW, Dabis F, et al. Mortality of HIV-1-infected patients in the first year of antiretroviral therapy: comparison between low-income and high-income countries. *Lancet* 2006; **367**: 817-824.
- (35) Bonifaz A, Flores-Romero MP, Araiza J. Criptococosis y su diagnóstico de laboratorio. *Lab-acta* 1996; **8**: 37-43.
- (36) Bonifaz A, Garibay C. Estudio comparativo del diagnóstico micológico de criptococosis meníngea. *Lab-acta* 1991; **2**: 31-35.
- (37) Bonifaz A, González-Ibarra M. Estudio comparativo mediante pruebas inmunológicas y micológicas de la criptococosis meníngea. *Rev Med Hosp Gral* 1996; **59**: 88-92.
- (38) Levitz SM. The ecology of *Cryptococcus neoformans* and the epidemiology of criptococcosis. *Rev Infect Dis* 1991; **13**:1163-1169.
- (39) UNAIDS/WHO 2008 Report on the global AIDS epidemic. Disponible en: http://www.unaids.org/en/knowledgeCentre/HIVData/GlobalReport/2008/2008_Global_report.asp
- (40) Mitchell TG, Perfect JR. Cryptococcosis in the era of AIDS 100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clin Microbiol Rev* 1995; **8**: 515-548.
- (41) Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, et al. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS* 2009; **23**:525–530.

- (42) López-Martínez R, Soto-Hernández JL, Ostrosky-Zeichner L, et al. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* among patients with cryptococcal meningitis in Mexico. First observations. *Mycopathologia* 1996; **134**: 61-64.
- (43) Kwon-Chung KJ, Bennet JE. Medical Mycology. Ed. Lea and Lebigier. 1st. Ed, Philadelphia, 1977: 497-500.
- (45) Colom MF, Frasés S, Ferrer C, et.al. First Case of Human Cryptococcosis Due to *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in Spain. *J Clin Microbiol* 2005; **43**: 3548-3550.
- (46) Speed BR, Strawbridge L, Ellis DH, *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* meningitis in an Australian patients with AIDS. *J Med Vet Mycol* 1993; **31**: 395-399.
- (47) Kapenda K. Meningitis due to *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in a Zairean AIDS Patient. *Eur J Clin Microbiol* 1987; **6**: 320-321.
- (48) St Germain G, Noël G, Kwon–Chung KJ. Disseminated Cryptococcosis due to *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in a Canadian patient with AIDS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988; **7**: 587-588.
- (49) Clancy MN, FleisChmann J, Howard DH, Kwon-Chung KJ, Shimizu RY. Isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from a patient with AIDS in southern California. *J Infect Dis* 1990; **161**: 809.
- (50) Rozenbaum R. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in a Brazilian AIDS Patient. *Mycopathol* 1990; **112**: 33-34.
- (51) Bava AJ, Negroni R, Estudio del primer caso autóctono argentino de

criptococosis producida por *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. *Rev Iberoamer Micol* 1990; **7**: 39-42.

(52) Stephen C, Lester S, Black W, et al. Multispecies outbreak criptococosis on southern Vancouver Island, British Columbia. *Can J Vet Res* 2002; **43**: 792-794.

(53) Cano-Domínguez C, Villarreal-Urenda C, Estrada-Aguilar JL, et al. Infección por *Cryptococcus neoformans* en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Aspectos clínicos, paraclínicos y terapéuticos. *Rev Med IMSS (Mex)* 1989; **27**:175-179.

(54) Barriga-Angulo G, Castillo-Torres NP, Rojas-Molina L. Meningoencefalitis: etiología de 2,121 casos confirmados bacteriológicamente. *Rev Mex Patol Clin* 1998; **45**: 67.

(55) López-Martínez R. Las micosis en la época del sida. *Rev Med IMSS (Mex)* 2000; **38**: 421-423.

8. Glosario

- ⇒ **Adenitis.** Inflamación de una glándula o ganglio linfático.

- ⇒ **Adinámia.** Es la ausencia de movimiento o reacción, lo que puede llevar a un estado de postración.

- ⇒ **Artalgias.** Dolor en las articulaciones.

- ⇒ **Astenia.** Sensación generalizada de debilidad física y psicológica.

- ⇒ **Cicloheximida.** Es un inhibidor de la síntesis proteica en células eucarióticas y es producida por *Streptomyces griseus*. Actúa interfiriendo la actividad de la peptidil transferasa del ribosoma 60S, bloqueando la elongación traduccional.

- ⇒ **Citocinas.** Las citocinas son factores solubles no antígeno específicos que son producidos mayoritariamente por leucocitos e intervienen en la regulación de las células del sistema inmune y los procesos inflamatorios. Estas moléculas están implicadas en las respuestas frente a agentes infecciosos, pero en ocasiones pueden ser responsables de procesos patológicos.

- ⇒ **Convulsión Jacksoniana.** La convulsión motora jacksoniana se inicia con una contracción tónica de los dedos de una mano o un lado de la cara o pié; se transforman en movimientos clónicos de esas partes de manera análoga a lo que ocurre en las crisis T-C generalizadas. Los movimientos pueden quedar localizados o diseminarse desde la parte afectada hacia otros músculos del mismo lado del cuerpo. En la forma “jacksoniana clásica”, la crisis se extiende desde la mano hacia arriba por el miembro superior, hacia la cara y hacia la pierna; en otros casos comienza en el pié, la convulsión marcha hacia arriba.

- ⇒ **Coriorretinitis.** Es la inflamación de coroides y retina.

- ⇒ **Diplopía.** es el término que se aplica a la visión doble, la percepción de dos imágenes de un único objeto. La imagen puede ser horizontal, vertical o diagonal.

- ⇒ **Estertores.** Los estertores son ruidos chasqueantes, burbujeantes o estrepitosos que se escuchan en el pulmón.

- ⇒ **Estrés oxidativo.** Es causado por un desequilibrio entre la producción de oxígeno reactivo y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. Todas las formas de vida mantienen un entorno reductor dentro de sus células. Este entorno reductor es preservado por las enzimas que mantienen el estado reducido a través de un constante aporte de energía metabólica. Desbalances en este estado normal redox pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula.

- ⇒ **Factor reumatoide.** El factor reumatoide (FR) es una prueba que mide la presencia y nivel de la IgM específica contra las inmunoglobulinas IgG anormales, producidas por los linfocitos de la membrana sinovial, de las articulaciones de personas afectadas por la Artritis Reumatoide.

- ⇒ **Fosfolipasa.** Enzima que hidroliza los enlaces éster presentes en los fosfolípidos.

- ⇒ **Hemiparesia.** La hemiparesia se refiere a la debilidad motora de un brazo y una pierna del mismo lado del cuerpo, en cambio el rostro y la cabeza pueden sufrir idéntica debilidad motora aunque no tiene porque ser así.

- ⇒ **Hemiplejia.** Trastorno del cuerpo del paciente en el que la mitad lateral de su cuerpo está paralizada.

- ⇒ **Lacasa.** Enzima producida por algunos hongos que induce la síntesis de melanina a partir de compuestos di-hidroxifenólicos.
- ⇒ **Linfangitis.** La linfangitis es una inflamación de los canales linfáticos que ocurre como resultado de una infección en un sitio distal del canal.
- ⇒ **Neurorretinitis.** Inflamación de la retina y del nervio óptico del ojo.
- ⇒ **Neutrofilia.** Aumento del número total de neutrófilos en sangre.
- ⇒ **Nigrosina.** Colorante aniónico que no penetra la célula.
- ⇒ **Nistagmo.** Movimiento involuntario e incontrolable de los ojos.
- ⇒ **Osteofibrosis.** Enfermedad ósea que afecta al desarrollo de las diáfisis (cuerpo de los huesos largos comprendido entre los dos extremos) de los huesos, más a menudo a cráneo, huesos faciales, costillas, húmero, fémur, tibia y pelvis. Con menor frecuencia puede existir afectación de las vértebras.
- ⇒ **Osteolisis.** Disminución de la densidad o capacidad de atenuación de las estructuras óseas, que puede estar ocasionado por una disminución o destrucción de las trabéculas óseas, o ser consecuencia de una escasa mineralización.
- ⇒ **Papiledema.** Inflamación alrededor del disco óptico, el área donde el nervio óptico (el nervio que lleva los mensajes del ojo al cerebro) entra en el globo ocular. El papiledema se presenta cuando el nervio óptico se inflama debido a mayor presión cerebral causada por tumores u otros problemas.
- ⇒ **Periostitis.** Es la inflamación del periostio, que es un tejido que separa al hueso del músculo.

- ⇒ **Pronasa.** Enzima que media la hidrólisis de proteínas (enzima proteolítica).
- ⇒ **Selectinas.** Las selectinas son moléculas de adhesión que regulan la interacción de los leucocitos, plaquetas y células endoteliales.
- ⇒ **Sideróforo.** Compuesto quelante de hierro secretado por microorganismos.
- ⇒ **Signo de Brudzinski.** Es la respuesta rígida de la nuca cuando se interna su flexión, es decir, al aproximar el mentón hacia el tronco y tiene gran importancia en el diagnóstico de una meningitis (la rigidez severa del cuello produce que las rodillas y cadera del paciente se flexionen cuando se flexiona el cuello).
- ⇒ **Signo de Kerning.** Útil en la valoración de irritación meníngea, el paciente en decúbito supino con las caderas flexionadas es incapaz de extender las rodillas sin dolor.
- ⇒ **Tinción con Azul de Alcían.** Usando el azul alcían en condiciones de pH en torno a 2,4 -2,6 se tiñen los mucopolisacáridos ácidos sulfatados y los carboxílicos. Si por el contrario se emplea a un pH muy bajo, en torno a 1, sólo se colorea los mucopolisacáridos sulfatados, los carboxílicos no se tiñen. Si se sigue disminuyendo el pH hasta 0,5 se incrementa la selectividad de la tinción y en este caso sólo se tiñen los mucopolisacáridos fuertemente sulfatados.
- Azul alcían a pH 2,5 los mucopolisacaridos ácidos (carboxilos y sulfatos) se tiñen de azul.
Azul alcían a pH 1 sólo se tiñen de azul los mucopolisacaridos ácidos sulfatados.
Azul alcían a pH 0,5 sólo se tiñen de azul los mucopolisacaridos ácidos fuertemente sulfatados.)
- ⇒ **Tinción con Blanco de Calcoflúor.** La tinción se basa en la capacidad del blanco de calcoflúor para unirse a los β 1-3, β 1-4 polisacáridos (celulosa y quitina) de la pared fúngica, y en que el compuesto exhibe

fluorescencia cuando se expone a luz ultravioleta, permitiendo delinear claramente elementos fúngicos.

- ⇒ **Tinción con Hierro coloidal.** Sirve para demostrar la presencia de *Cryptococcus neoformans* en cortes histológicos. Se utiliza sobre sustancias con alto contenido de polisacáridos por su capacidad de unirse a cationes polivalentes, utilizando hierro coloidal (Fe^{3+}).

- ⇒ **Tinción con Mucicarmin de Mayer.** Tiñe la cápsula de *C. neoformans* de color rojo-rosáceo.

- ⇒ **Tinción de Fontana-Masson.** Con base en el nitrato de plata amoniacal, tiñe de negro la melanina, presente en *C. neoformans*.

- ⇒ **Tinción de Gomori-Grocott (Metenamina-Plata).** Tiñe elementos fúngicos presentes en los tejidos. Las muestras se tratan con ácido crómico, se tiñen con una solución de metenamina y nitrito de plata y se contratiñen con una solución verde. Las células se ven color marrón sobre un fondo verde.

- ⇒ **Tinción de Papanicolaou.** La tinción de Papanicolaou es el método de tinción más utilizado para material citológico. En el primer paso se tiñen los núcleos con una solución de hematoxilina. Los núcleos aparecen azul, violeta oscuro a negro. El segundo paso es la tinción del citoplasma con una solución anaranjada, que presenta especialmente las células maduras y queratinizadas. Las estructuras diana se tiñen de anaranjado con diferentes intensidades. En el tercer paso de tinción se usa la solución polícroma, que es una mezcla de eosina, verde luz SF y pardo de Bismarck. Con la solución polícroma se muestra la diferenciación del epitelio escamoso simple.

- ⇒ **Tinción Hematoxilina-Eosina.** El método supone la aplicación de la tinción de hematoxilina, que tiñe estructuras ácidas (basófilas) en tonos

azul y púrpura, y el uso de eosina que tiñe componentes básicos (acidófilos) en tonos de color rosa.

⇒ **Tinción Ziehl-Neelsen.** Este método se basa en que las paredes celulares de ciertos microorganismos contienen ácidos grasos que les confieren la propiedad de resistir la decoloración con alcohol-ácido, después de la tinción con colorantes básicos.

Abreviaturas

AFLP	Siglas en Inglés de “Amplified Fragment Length Polymorphism”
CBG	Medio de Canavanina-Glicina-Azul de bromotimol
CBS	Siglas en Holandés de “Centraalbureau voor Schimmelcultures”
DACAD	Determinación de Antígeno Criptocócico por Aglutinación Directa
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
ELISA	Siglas en Inglés de “Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay”
G (+)	Microorganismo Gram positivo
IDR	Intra-Dermo-Reacción
IFA	Prueba de Inmunofluorescencia Indirecta
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
KNO₃	Nitrato de Potasio
LCR	Líquido cefalorraquídeo
L-DOPA	L- dihidroxifenilalanina
MLST	Siglas en Inglés de “Multilocus sequence typing”
PCR	Siglas en Inglés de “Polymerase Chain Reaction”
RAPD	Siglas en Inglés de “Randomly amplified polymorphic DNA”
RFLP	Siglas en Inglés de “Restriction Fragment Length Polymorphisms”
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SNC	Sistema Nervioso Central
TRC	Tinción de Resaltado Capsular
UFL	Unidades Formadoras de Levaduras
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana

VIH (+)	Paciente con diagnóstico de VIH positivo
VIH (-)	Paciente con diagnóstico de VIH negativo
5-FC	5-Fluorocitosina