

## CRIPTOCOCOSIS: DIAGNOSTICO POR EL LABORATORIO

NELLY ORDOÑEZ\*, JEANNETTE CASTILLO\*, GLORIA STELLA MORENO\*

Se informan 29 casos de criptococosis diagnosticados en el Laboratorio de Micología del Instituto Nacional de Salud, durante un período de 6 años (1981-1986), lo que corresponde a 4,8 casos por año. La entidad fue más frecuente en hombres (62%) y en edades comprendidas entre 20 y 40 años. En 12 pacientes se disponía de historia clínica y en todos ellos se demostró la presencia de una enfermedad o condición de base. El *Cryptococcus neoformans* fue observado en el examen directo en el 79% de los casos y en el 93% de los cultivos. En 14 pacientes en los cuales se practicó la prueba de aglutinación de latex, ella fue positiva en todos los líquidos cefalorraquídeos, así como en 60% de los sueros y en el 50% de las orinas. La clasificación por serotipos de 16 aislamientos fue lograda empleando el medio CGB y ella dió como resultado 14 cepas de *C. neoformans* var. *neoformans* y 2 cepas de *C. neoformans* var. *gattii*.

### INTRODUCCION

Entre las varias micosis sistémicas el mayor número de formas meníngeas corresponde a la criptococosis<sup>(1)</sup>. Hasta 1975 se habían publicado en Colombia 54 casos de criptococosis, 38 diagnosticados por estudios anatomopatológicos y 16 por estudios micológicos<sup>(2, 15)</sup>. En 1980 el laboratorio de Micología Médica del Instituto Nacional de Salud publicó 14 casos más, diagnosticados entre 1975 y 1980<sup>(16)</sup>. En este último estudio se resaltaba la importancia de las pruebas serológicas para el diagnóstico de esta micosis.

El *Cryptococcus neoformans*, agente etiológico de la criptococosis, presenta 4 serotipos, los cuales han sido agrupados taxonómicamente en *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipos A, D) y *C. neoformans* var. *gattii* (serotipos B y C),<sup>(17, 19)</sup>. La importancia de la serotipificación radica en que el *C. neoformans* var. *gattii* es más resistente a la terapia<sup>(20)</sup>.

Presentamos los nuevos casos diagnosticados por examen directo, cultivo y pruebas serológicas en el período comprendido entre 1981 y 1986 en el laboratorio de Micología Médica del Instituto Nacional de Salud. Además se informa sobre la serotipificación de 16 aislamientos mediante el uso del medio CGB

(canavanina, glicina, azul de bromotimol), descrito por Kwon-Chung et al<sup>(21)</sup>.

### MATERIALES Y METODOS

#### Muestras

Se estudiaron 29 líquidos cefalorraquídeos (LCR), 5 sueros y 2 orinas provenientes de 29 pacientes, las muestras fueron remitidas por diferentes centros hospitalarios de la ciudad de Bogotá y del Hospital General de Neiva.

#### Procesamiento

Las muestras de LCR y orina fueron concentradas por centrifugación a 2000 rpm por 15 minutos, realizándose el examen directo mediante la técnica de tinta china<sup>(22)</sup> y el cultivo en cajas de Petri con agar glucosado de Sabouraud (sin cicloheximida).

#### Identificación

La identificación del microorganismo aislado en el cultivo se realizó con base en la morfología de la levadura y en la presencia de cápsula, observada con la preparación de tinta china; también se determinó la

\* Laboratorio de Micología Médica. Grupo de Microbiología. Instituto Nacional de Salud. Bogotá, D.E.

producción de ureasa<sup>(23)</sup> la capacidad de crecimiento a 37°C y la asimilación de carbohidratos<sup>(24)</sup>. La serotipificación se realizó en el medio CGB (canavanina, glicina, azul de bromotimol)<sup>(21)</sup> que permite el crecimiento de *C. neoformans* var. *gattii* debido a que este emplea la glicina como fuente de carbono y nitrógeno y es resistente a la canavanina.

El *C. neoformans* var. *neoformans* no crece en este medio.

### Serología

Para la determinación y cuantificación del antígeno capsular presente en las muestras de LCR, suero y orina, se realizó la prueba de aglutinación de partículas de latex<sup>(25)</sup>, empleando reactivos comerciales (Cryptococcal antigen latex agglutination system, Meridian Diagnostics). Esta misma técnica se empleó para el seguimiento de dos pacientes en los cuales fue posible obtener muestras seriadas.

## RESULTADOS

### Pacientes, procedencia, sexo y edad

Los pacientes fueron remitidos desde 14 centros hospitalarios diferentes. Las instituciones que presentaron el mayor número de pacientes fueron: el Hospital San Juan de Dios, el Instituto Neurológico de Colombia, el Hospital Militar Central y el Hospital de San José (Tabla 1).

TABLA 1. DISTRIBUCION DE LOS 29 CASOS DE CRIPTOCOCOSIS SEGUN LA INSTITUCION REMITENTE

INSTITUCIÓN	No. PACIENTES
HOSPITAL SAN JUAN DE DIOS	4
INSTITUTO NEUROLÓGICO DE COLOMBIA	4
HOSPITAL MILITAR CENTRAL	4
HOSPITAL SAN JOSÉ	4
HOSPITAL SAN IGNACIO	2
CLÍNICA SHATO	2
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGÍA	2
HOSPITAL DE LA SAMARITANA	1
HOSPITAL GENERAL DE NEIVA	1
HOSPITAL SAN CARLOS	1
HOSPITAL DE LA MISERICORDIA	1
CLÍNICA CUELLAR	1
POLICÍA NACIONAL	1
PARTICULAR	1

El número de casos varió entre 2 y 7 por año con un promedio de 4.8, distribuidos según está expresado en la Tabla 2.

En 19 pacientes se logró establecer el lugar de procedencia, correspondiendo 11 de ellos a Cundinamarca, 2 al Casanare y 1 a cada uno de los siguientes departamentos: Santander, Tolima, Caquetá, Boyacá, Magdalena y Vaupés.

La entidad se presentó con mayor frecuencia en hombres (62%) y en menores de 40 años (77%) (Tabla 3).

TABLA 2. DISTRIBUCION DE LOS 29 CASOS DE CRIPTOCOCOSIS SEGUN AÑO DEL DIAGNOSTICO.

AÑO	No. PACIENTES	%
1981	7	24,1
1982	5	17,2
1983	3	10,4
1984	2	7,0
1985	7	24,1
1986	5	17,2
TOTAL	29	
PROMEDIO DE CASOS POR AÑO	4,8	

TABLA 3. DISTRIBUCION DE LOS 29 CASOS DE CRIPTOCOCOSIS SEGUN GRUPO ETAREO Y SEXO

GRUPO ETAREO	S E X O	
	♂	♀
< 10	2	0
10 - 20	1	3
20 - 30	4	2
30 - 40	3	4
> 60	3	2
NI	5	0
TOTAL	18	11
%	( 62 )	( 38 )

NI = NO INFORMADO

*Datos clínicos*

En 22 pacientes la sintomatología fue conocida, señalándose la cefalea como predominante (68,2%); los síntomas restantes quedan consignados en la Tabla 4. Es importante señalar la presencia de un nódulo pulmonar en un caso.

En 12 de los 19 pacientes (41,4%), se logró establecer un factor predisponente o condición de base (Tabla 5).

*Diagnóstico micológico*

El *C. neoformans* fue observado microscópicamente en el 79,3% de las muestras de LCR y recobrado en

cultivo en el 93,1%. Ambas pruebas coincidieron en el 79,3% de los casos (Tabla 6). En dos pacientes el diagnóstico fue establecido solamente por la prueba de aglutinación de latex.

La prueba de latex se realizó en 14 LCR y la positividad alcanzada fue del 100%, en 5 sueros fue del 60% y del 50% en dos orinas. Los títulos variaron bastante, dependiendo de la muestra, siendo más altos en el LCR (Tabla 7).

*Seguimiento*

En el seguimiento de dos pacientes realizado durante el segundo mes de tratamiento, la prueba de aglutinación de latex mostró, en el primer caso, una disminu-

TABLA 4. SÍNTOMAS PREDOMINANTES EN 22 PACIENTES

SÍNTOMAS	PACIENTES	
	No.	%
CEFALEA	15	68,2
VÓMITO	7	31,8
HIPERTENSIÓN ENDOCRANEANA	4	18,2
RÍGIDEZ DE NUCA	4	18,2
CAMBIO DE CONDUCTA	4	18,2
CRISIS CONVULSIVA	2	9,1
NÓDULO PULMONAR	1	4,5

TABLA 5. FACTORES PREDISPONENTES O CONDICIÓN DE BASE EN 29 PACIENTES DE CRIPTOCOCOSIS.

FACTOR PREDISPONENTE CONDICIÓN DE BASE	PACIENTES	
	No.	%
LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO	2	6,8
ENFERMEDAD DE HODGKIN	2	6,8
ARTRITIS REUMATOIDEA	2	6,8
TRANSPLANTE RENAL	1	3,5
ATÓMICO	1	3,5
ANTIBIOTERAPIA	1	3,5
CIRUGÍA FÍSTULA NASAL	1	3,5
OTROS	2	6,8
TOTAL	12	41,4
SIN DATOS	17	58,6

TABLA 6. RESULTADOS DE LOS EXAMENES DIRECTOS Y CULTIVOS EN 29 MUESTRAS DE LCR.

PRUEBA DE LABORATORIO	L	C	R
	NÚMERO	% POSITIVIDAD	
EXAMEN DIRECTO Y CULTIVO POSITIVOS	23	79,3	
EXAMEN DIRECTO NEGATIVO Y CULTIVO POSITIVO	4	13,8	
EXAMEN DIRECTO Y CULTIVO NEGATIVO	2 <sup>A</sup>		

A ESTOS DOS CASOS SE DIAGNOSTICARON CON LA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN DE LATEX.

TABLA 7. RESULTADOS DE LA PRUEBA DE AGLUTINACIÓN DE PARTICULAS DE LATEX EN L C R, SUERO Y ORINA

TÍTULO	MUESTRA		
	L C R	SUERO	ORINA
No REACTIVO	0	2	1
1:2 - 1:128	5	2	1
1:128 - 1:256	2	0	0
1:1024 - 1:8196	7	1	0
TOTAL	14	5	2
% POSITIVIDAD	100	60	50

ción en los títulos del LCR de 1:16 a no reactivo, en el suero presentó el mismo título (1:1024) en las dos muestras analizadas; el segundo caso presentó disminución en los títulos del LCR de 1:256 a 1:64, la titulación en suero no fue realizada.

#### DISCUSION

Como ya habíamos comentado en publicación anterior<sup>(16)</sup>, creemos que el aparente aumento en el número de casos de criptococosis sólo refleja el mejor conocimiento de la entidad, el empleo de técnicas apropiadas y la búsqueda constante que se tiene en algunos centros hospitalarios. El predominio de pacientes procedentes de Cundinamarca señala únicamente la vecindad con el sitio en donde se hace el diagnóstico. En esta serie la positividad fue un poco más alta en hombres que en mujeres, pero similarmente a lo informado antes<sup>(16)</sup>, existió una mayor frecuencia entre los 20 y 40 años. En 41,4% de los pacientes se tuvo conocimiento de la existencia de una condición de base predominando las condiciones en las que existen fallas inmunológicas.

En ningún caso se comprobó la criptococosis como enfermedad primaria pulmonar salvo en un paciente en el que se estableció compromiso pulmonar por hallazgo radiológico, aunque no se comprobó la presencia del microorganismo en muestras de esputo.

Usadas en conjunto las pruebas empleadas (examen directo, cultivo y latex) permitieron el diagnóstico de todos los casos informados; se subraya nuevamente la alta sensibilidad de la prueba de aglutinación con partículas de latex para buscar el antígeno capsular y la utilidad de ésta en el seguimiento del paciente<sup>(16, 25)</sup>.

De acuerdo con lo descrito para otros países<sup>(26)</sup>, la especie más frecuentemente aislada de muestras clínicas fue el *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*; sin embargo, también se presentó el *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* en dos casos: una paciente de 16 años de edad, procedente de Mitú (Vaupés), quien presentó un cuadro meníngeo (no existe información adicional), del otro paciente no se conoce ningún dato. Esta variedad había sido reportada para regiones tropicales y subtropicales en otros países<sup>(26, 27)</sup>. La importancia epidemiológica de este hallazgo es objeto de estudio en nuestro laboratorio.

#### SUMMARY

Twenty-nine cases of cryptococcosis studied in the Medical Mycology Laboratory of the Institute over a period of 6 years are presented. The laboratory tests employed to establish the diagnosis and their positivity were: direct examination (79%) culture (93%) and latex agglutination (100%). The serotyping of the 16 isolates in CGB medium was: 14 isolates *C. neoformans* var. *neoformans* and 2 *C. neoformans* var. *gattii*.

#### AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro agradecimiento a la doctora Angela Restrepo de la Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB) por sus valiosos comentarios en la corrección del manuscrito.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Kaufman L, Blumer S. Cryptococcosis: the awakening giant. The black and white yeasts. PAHO Sc Pub No. 356. 1978; pp 176-182.
2. Greer D, Polanía LA.: Criptococosis en Colombia: Resumen de la literatura y presentación de doce casos en el Valle del Cauca. Acta Med Valle. 1977; 8: 160-166.
3. Lichtenberger E, Fajardo L.: Un caso de criptococosis. Instant Med Bogotá. 1956; 21: 31-33.
4. Takano J, Cuello C, Hoffmann E, Correa P.: Estudio de lesiones residuales pulmonares. Rev Lat Anat Patol. 1962; 6: 63-69.
5. López BH, Hurtado Ch, Correa G.: Las Micosis profundas en el Hospital San Juan de Dios. El Médico. 1965; 10: 20-26.
6. Peña C: Deep mycotic infections in Colombia. A clinico Pathologic study of 162 cases. Amer J Clin Path. 1967; 47: 505-520.
7. Pedraza M.: Mycotic infections at autopsy. A comparative study in two University Hospitals. Amer J Clin Path. 1969; 51: 470-476.
8. Vergara I, Saravia J, Toro G, Román G, Navarro L.: Meningitis del adulto. Revisión clínica y patológica de 400 casos. Rev Fac Med U N Colombia. 1971; 37: 321-379.
9. Toro G, Saravia J, Vergara I, Sanín LH, Rodríguez G.: Criptococosis del sistema nervioso central. Revisión del tema y estudio de 7 casos. Rev Fac Med U N Colombia. 1973; 39: 1-13.

CRIOPTOCOCOSIS: DIAGNOSTICO POR EL LABORATORIO

10. Díaz O.: Criptococosis en Santander. Trib Med. 1975; 52: A13-A20.
11. López F, Bedoya V.: Criptococosis. Presentación de un caso. Ant Med. 1966; 16: 867-874.
12. Tobón D.: Torulopsis. Presentación de un caso de autopsia. Rev H S J D (Armenia). 1966; 4: 10-13.
13. Buitrago E, Gómez S.: Comprobación de un caso de criptococosis. Caldas Médica. 1960; 1: 5-6.
14. Jaramillo J.: Torulopsis meningoencefálica en la infancia. Presentación de un caso tratado exitosamente con anfotericina B. Rev H S J D (Armenia). 1966; 4: 15-23.
15. Uribe H, Retrepo A, Díaz F.: Estudio prospectivo clínico y microbiológico de las meningitis sabagudas y crónicas. Ant Med 1973; 23: 153-164.
16. Ordoñez N, Castañeda E, Guzmán M.: Criptococosis. Estudio de catorce casos con diagnóstico comprobado por el laboratorio. Biomédica. 1981; 1: 87-93.
17. Wilson DE, Bennett JE, Bailey JW.: Serologic grouping of *Cryptococcus neoformans*. Proc Soc Exp Biol Med. 1968; 127: 820-823.
18. Kwon-Chung KJ.: Description of a new genus, *Filobasidiella*, the perfect state of *Cryptococcus neoformans*. Mycologia. 1975; 67: 1197-1200.
19. Kwon-Chung KJ.: A new species of *Filobasidiella*, the sexual state of *Cryptococcus neoformans* B and C serotypes. Micologia. 1976; 68: 942-946.
20. Rinaldi M, Drutz D, Howell A, Sande M, Wofsy C, Hadley W.: Serotypes of *Cryptococcus neoformans* in patients with AIDS. J Infect Dis. 1986; 153: 642.
21. Kwon-Chung KJ, Polacheck I, Bennett JE.: Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). J Clin Microbiol. 1982; 15: 535-537.
22. Haley L, Callaway C.: Laboratory Methods in Medical Mycology. 1978; pp 112-138 PEW Publication No. (CDC) 78-8361.
23. Sleeliger H.: Use of a urease test for the screening and identification of *Cryptococcosis* J Bacteriol. 1956; 72: 127-131.
24. Adams ED, Cooper BH.: Evaluation of a Modified Wicherham Medium for identifying Medically Important Yeasts. Amer J Med Technol. 1974; 40: 377-388.
25. Palmer D, Kaufman L, Kaplan W, Cavallero J.: Serodiagnosis of Mycotic diseases. Charles C. Thomas, Springfield. Illi. 1977; pp 76-106.
26. Bennett JE, Kwon-Chung K, Howard D.: Epidemiologic differences among serotypes of *Cryptococcus neoformans*. Am J Epidemiol. 1977; 105: 582-586.
27. Muchmore H, Scott E, Felton F, Fromtling R.: *Cryptococcus neoformans* serotype groups encountered in Oklahoma. Am J Epidemiol. 1980; 112: 32-38.