



Linfadenitis canina producida por *Cryptococcus neoformans*. Primer caso en Chile

Pamela Thomson¹, Gabriel Miranda² y Víctor Silva¹

¹Programa de Microbiología y Micología, ICBM, Facultad de Medicina y ²Clínica de Pequeños Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile

Resumen Presentamos el primer caso de linfadenomegalia producida por *Cryptococcus neoformans* en un cánido en Chile. El paciente, de raza rottweiler, evidenció al examen físico una linfadenomegalia generalizada que afectaba los nódulos linfáticos submandibulares, cervicales superficiales y poplíteos. Se procedió a realizar una biopsia del nódulo submandibular derecho, donde se aisló e identificó el agente *Cryptococcus neoformans*. Tras un estudio de sensibilidad antifúngica se instauró un tratamiento con ketoconazol por vía oral durante seis meses, observándose curación clínica. Transcurridos más de dos años post-tratamiento, el animal no ha presentado recidivas.

Palabras clave *Cryptococcus neoformans*, Criptococosis, Linfadenitis

Canine lymphadenitis caused by *Cryptococcus neoformans*. First case in Chile

Summary We report the first case of canine lymphadenomegalia caused by *Cryptococcus neoformans* in Chile. Physical examination of a Rottweiler dog patient showed a generalized lymphadenomegalia that affected the submandibular, superficial cervical and popliteus lymphatic nodules. *Cryptococcus neoformans* was isolated and identified from biopsies of the right submandibular nodule. After antifungal susceptibility, oral ketoconazole treatment was established for a period of six months showing clinical improvement. Two years post-treatment the patient showed no signs of the infection.

Key words *Cryptococcus neoformans*, Cryptococcosis, Lymphadenitis

Se denomina criptococosis a la infección producida por levaduras encapsuladas del género *Cryptococcus*, siendo *Cryptococcus neoformans* el agente más comúnmente aislado [4,7,24]. Se han descrito tres serotipos en esta especie: A, D y AD. Los serotipos B y C son propios de la especie *Cryptococcus gatti* (*Cryptococcus bacillisporus*) [12]. El espectro de manifestaciones clínicas va desde afecciones cutáneas simples hasta cuadros letales con invasión de órganos internos y una marcada predilección por el sistema nervioso central, principalmente en pacientes inmunosuprimidos [2,4,14-16,24-26].

La adquisición natural de esta enfermedad se ha descrito en un variado número de hospederos, incluyendo al hombre, caballo, rana, mono, cerdo, ratón, reptiles [4,5,7],

perros, gatos, hurones [8,14], koalas [13] y aves [14,19]. En la naturaleza, *C. neoformans* se aísla frecuentemente de sustratos contaminados con heces de palomas y guano de otras aves, siendo la vía aérea la más importante en la adquisición de la infección, causando por lo general cuadros pulmonares subclínicos en el hombre y los animales [3-5]. Por otro lado, *C. gatti* se aísla principalmente del árbol *Eucalyptus camaldulensis* en países tropicales y subtropicales como Australia, Nueva Guinea, Brasil y Paraguay, entre otros [6,11,27].

En nuestro país, *C. neoformans* se ha aislado tanto de muestras ambientales como clínicas [4], siendo aun considerado un importante agente de micosis oportunista invasora en pacientes con sida [26]. Sin embargo, la literatura nacional sobre esta micosis en animales, solo documenta un caso de criptococosis cutánea primaria en un perro dálmata [2]. Debido a la importancia de esta infección y a la carencia de información en nuestro medio, describimos un caso de linfadenitis criptocócica generalizada en un cánido, pudiendo tratarse del primer caso de estas características documentado en Chile.

Caso clínico

Cánido de raza rottweiler, macho, un año y siete meses de edad, que es llevado a consulta veterinaria el día 23 de mayo de 2003 por pérdida progresiva de peso y episodios intermitentes de diarrea, decaimiento, anorexia,

Dirección para correspondencia:

Dr. Víctor Silva
Programa de Microbiología y Micología, ICBM
Facultad de Medicina, Universidad de Chile
Independencia 1027
Santiago, Chile
Tel.: +56 2 978 6145
Fax: +56 2 735 5855
E-mail: vsilva@med.uchile.cl

Aceptado para publicación el 14 de febrero de 2006

©2006 Revista Iberoamericana de Micología
Apdo. 699, E-48080 Bilbao (Spain)
1130-1406/01/10.00 ::

fiebre fluctuante y tos. No se observaron manifestaciones cutáneas, ni neurológicas.

Al examen físico se evidenció una linfadenomegalia generalizada que afectaba a los nódulos linfáticos submandibulares, cervicales superficiales y poplíteos, llegando estos a superar de 4 a 6 cm su diámetro normal.

Ultrasonográficamente se observó linfadenomegalia del nódulo iliaco interno e infiltración esplénica. Los exámenes sanguíneos seriados mostraron una leucocitosis con neutrofilia persistente, hipoalbuminemia e hiperglobulinemia.

El paciente fue sedado usando propofol al 1% (Astrazeneca, Reino Unido) en dosis de 4 mg/kg por vía endovenosa, con el fin de obtener una biopsia del nódulo linfático submandibular derecho para realizar el estudio micológico, siendo esta la muestra de elección por ser la más representativa del sitio de infección. En espera de los resultados, el paciente fue tratado con suplementos vitamínicos comerciales de vitamina B1, B6 y B12 (Lab. Chile, Chile), en dosis de 10.000 UI cada 48 h, vitamina E (Lab. Chile), 400 UI al día y vitamina C (Lab. Chile) 500 mg al día, durante 10 días.

Estudio micológico

Parte de la biopsia fue destinada a estudio citológico, revelándose un proceso inflamatorio piogranulomatoso con presencia de microorganismos levaduriformes. Otra parte de la muestra fue macerada en mortero de porcelana estéril y suero fisiológico, para ser sembrada por duplicado en placas de Petri con agar glucosado de Sabouraud al 2% (Difco, EE.UU.) y agar patata-dextrosa (Difco), siendo ambos medios incubados a 25 °C y 37 °C. Al cabo de 48 h se observó crecimiento de colonias levaduriformes, de textura moderadamente mucosida, color crema, superficie lisa y aspecto brillante en los medios incubados a 37 °C, que cambiaron gradualmente a color canela claro a medida que el cultivo envejecía. No se observó crecimiento a 25 °C. Se realizó un examen microscópico del cultivo con lactofenol-azul de algodón, observándose la presencia de blastoconidios redondos de tamaño homogéneo. El examen con tinta china reveló la presencia de una pequeña cápsula en torno a cada levadura (Figura 1).

La identificación de la especie se realizó con pruebas bioquímicas usando la galería colorimétrica Fungichrom I (International Microbio, Francia). Se trabajó a partir de un cultivo de 48 h, preparando un inóculo de concentración 2 McFarland en uno de los frascos de medio para identificación proporcionado por el fabricante. Inmediatamente se transfirieron 100 µl del inóculo a cada pocillo de la galería, incubándose a 30 °C de 24 a 48 h. La lectura de la galería generó el código 000352, tanto a las 24 como a las 48 h, identificándose la levadura como *Cryptococcus neoformans*. La confirmación de la especie, se realizó mediante la prueba de resistencia a la L-canavanina [10], sembrando la cepa en una placa de Petri conteniendo el medio canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB), confirmando la identificación de *C. neoformans* debido a su resultado negativo.

La sensibilidad antifúngica fue determinada in vitro por el método estandarizado E-Test (AB Biodisk, Suecia), en agar RPMI 1640 con glucosa (2%) y L-glutamina, tamponado con MOPS a pH 7, leyendo las pruebas tras 48 h de incubación a 37 °C. La cepa fue sensible a todos los antimicóticos testados, obteniendo valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) de 3 µg/ml para fluconazol, 0,064 µg/ml para itraconazol, 0,125 µg/ml para ketoconazol y 0,047 µg/ml para anfotericina B.

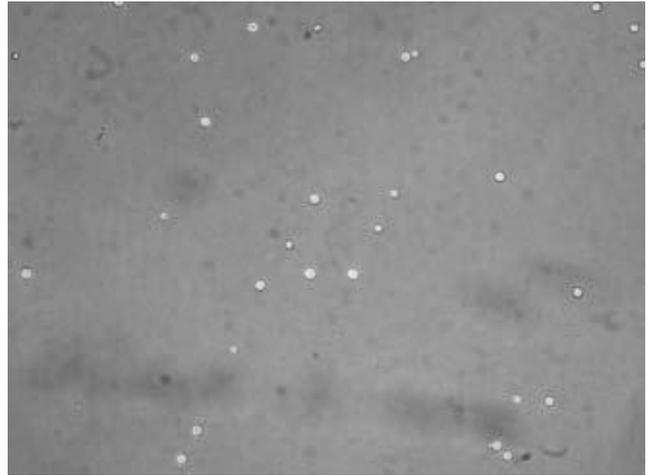


Figura 1. Microfotografía del examen microscópico con tinta china del cultivo. Se observan blastoconidios redondos y homogéneos de levaduras con una pequeña cápsula (x400).

Tratamiento y evolución

Una vez establecido el diagnóstico micológico, se suspendió la administración de complejos vitamínicos y se inició el tratamiento antimicótico con ketoconazol, vía oral en dosis de 5 mg/kg cada 12 h, durante seis meses, controlando la función hepática a través de las transaminasas séricas.

Al cabo de un mes de tratamiento, el paciente mostró una notable mejoría, evidenciando un aumento de peso, disminución del tamaño de los nódulos linfáticos, ausencia de episodios de tos, diarrea y buen estado de ánimo. El examen clínico y el hemograma mostraron a los tres meses curación completa. El tratamiento se prolongó hasta los seis meses, siendo bien tolerado por el animal. Transcurridos más de dos años de seguimiento, el paciente no ha presentado recidivas de esta enfermedad.

Discusión

Cryptococcus neoformans es una levadura capsulada de distribución mundial perteneciente al Phylum Basidiomycota, cuyo estado teleomorfo se denomina *Filobasidiella neoformans* [10], capaz de producir desde micosis cutáneas, hasta cuadros sistémicos que se inician preferentemente como una infección pulmonar capaz de diseminarse al sistema nervioso central, por el cual presenta gran tropismo [2,4,14-16,24-26]. En nuestro caso, además de los signos de diseminación linfática, el paciente presentaba tos, lo que podría indicar la vía de ingreso más probable del agente, mencionada por tantos autores [5,14,16,18,24].

Este microorganismo, se considera patógeno para un gran número de hospederos mamíferos, aves y reptiles [4,5,7,8,13,14,19]. En cánidos la criptococosis suele presentarse entre el año y los siete años de vida [14,16,24], siendo más habitual en animales de dos años [24], como es el caso de nuestro paciente, que se presentó a consulta con un año y siete meses de edad.

La criptococosis por *C. neoformans* en pequeños animales presenta un amplio espectro de manifestaciones clínicas, que se clasifican principalmente en neurológicas, respiratorias, oculares, óseas, cutáneas e, incluso, sistémicas, presentando signos clínicos como ceguera, paresia, ataxia, depresión, retinitis, artritis, estornudos, descarga nasal, erosiones cutáneas, ulceraciones y fístulas [2,8,14,16,25].

La presentación más frecuente en cánidos es la respiratoria, seguida de la neurológica [24]. En cambio, el diagnóstico de linfadenomegalia es de presentación ocasional [1,15,16] y no se ha descrito antes en nuestro país. Un estudio reciente señala que la criptococosis canina cursa frecuentemente con monocitosis y/o linfopenia, sin curso de anemia [14]. Sin embargo, en el curso de la linfadenomegalia por *C. neoformans*, se ha descrito la presentación de un cuadro de leucocitosis con neutrofilia, así como de anorexia y síndrome febril [1], datos que coinciden con lo manifestado por nuestro paciente.

La criptococosis en canes de raza rottweiler solo ha sido documentada en un estudio retrospectivo donde se hace mención a un caso [24]. Las razas con mayor predisposición a padecer criptococosis son las siguientes: doberman-pinscher, gran danés, cocker spaniel [14,16,20], border collie, bóxer, dálmata, pastor alemán [2,22], dachshund, Boston terrier, Jack Russel terrier, setter irlandés y boyero australiano [14].

Dentro del tratamiento contra la criptococosis sistémica en cánidos, la literatura señala el uso de antifúngicos como la anfotericina B [17], el itraconazol [2,20,21] y el ketoconazol [18,20,23], siendo menos utilizado el fluconazol, restringiéndose a neurocriptococosis debido a su habilidad para atravesar la barrera hematoencefálica [9].

Para el tratamiento de linfadenomegalia producida por *C. neoformans*, Acosta et al. [1] utilizaron ketoconazol

por vía oral en dosis de 40 mg/kg día durante doce meses en un gran danés, produciéndose resolución clínica. Transcurrido un año y medio tras el tratamiento, el perro regresó a consulta con signos neurológicos, aislando nuevamente el agente de tejidos del sistema nervioso central tras ser eutanasiado. En nuestro caso, considerando la relación coste/beneficio, se prefirió el uso de ketoconazol por la misma vía, pero en dosis de 5 mg/kg cada 12 h durante seis meses, esquema que presentó un excelente resultado clínico, siendo bien tolerado por el animal. Esta misma dosis ha sido utilizada previamente con itraconazol para el tratamiento de un perro con criptococosis cutánea primaria, con remisión completa del cuadro clínico [2].

La presente comunicación, muestra el primer caso descrito en Chile de linfadenomegalia producida por *Cryptococcus neoformans* en un perro de raza rottweiler que respondió satisfactoriamente al tratamiento con ketoconazol.

Agradecemos sinceramente a la Profesora María Cristina Díaz su colaboración en el test de L-canavanina

Bibliografía

- Acosta B, Álvarez P, Deniz S, Rodríguez L, Real F, Rosario I. Linfadenitis canina por *Cryptococcus neoformans*. Rev Iberoam Micol 1999; 16: 155-157.
- Balazs V, Silva V, Flores A. Criptococosis cutánea primaria (CCP): caso clínico y actualización. MEVEPA 2005; 18: 36-42.
- Colom-Valiente MF, Alberdi M, Messeguer I, Torres-Rodríguez J. Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* en muestras de medio ambiente de Alicante. Rev Iberoam Micol 1997; 14: 63-64.
- Díaz MC. Estudio de las variedades de *Cryptococcus neoformans* aislados de muestras clínicas y deyecciones de aves en Santiago-Chile. Rev Argent Micol 1997; 20: 12-1.
- Ellis D, Pfeiffer T. Ecology, life cycle, and infectious propagule of *Cryptococcus neoformans*. Lancet 1990; 336: 923-925.
- Ellis D, Pfeiffer T. Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. J Clin Microbiol 1990; 28: 1642-1644.
- Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. Atlas of clinical fungi (2nd ed.) Utrecht, Centraalbureau voor Schimmecultures - Reus, Universitat Rovira i Virgili, 2000.
- Jacobs G, Greene C, Medleau L. Cryptococcosis feline and canine. Waltham focus 1998; 8: 21-27.
- Kerwin S, McCarthy R, Van Steenouse J, Partington B, Tabeadá J. Cervical spinal cord compression caused by cryptococcosis in a dog: successful treatment with surgery and fluconazole. J Am Anim Hosp Assoc 1998; 34: 523-526.
- Kwon-Chung KJ, Polackcheck 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.
- Kwon-Chung KJ, Bennett J. High prevalence of *C. neoformans* var. *gattii* in tropical and subtropical regions. Zbl Bakt Hyg A 1984; 257: 213-218.
- Kwon-Chung KJ, Boekhout T, Fell JW, Díaz M. Proposal to conserve the name *Cryptococcus gattii* against *C. hondurians* and *C. bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenozymetes, Tremellomycetidae). Taxon 2002; 51: 804-806.
- Krockenberger M, Canfield P, Malik R. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in the koala (*Phascolarctos cinereus*): a review of 43 cases of cryptococcosis. Med Mycol 2003; 41: 225-234.
- Lester S, Kowalewich N, Barlee K, Krockenberger M, Fairfax T, Malik R. Clinicopathologic features of an unusual outbreak of cryptococcosis in dogs, cats, ferrets, and a bird: 38 cases. JAVMA 2004; 225: 1716-1721.
- Lichtensteiger C. Atypical cryptococcal lymphadenitis in a dog. Vet Path 1994; 31: 493-496.
- Malik R, Dill-Mackey E, Martin P, Wigney DI, Muir DB, Love DN. Cryptococcosis in dogs: retrospective study of 20 consecutive cases. J Med Vet Mycol 1995; 33: 291-297.
- Malik R, Craig A, Wigney D, Martin P, Love D. Combination chemotherapy of canine and feline cryptococcosis using subcutaneously administered amphotericin B. J Aust Vet 1996; 73: 124-128.
- Malik R, Wigney D, Muir D. Asymptomatic carriage of *Cryptococcus neoformans* in the nasal cavity of dogs and cats. J Med Vet Mycol 1997; 35: 27-31.
- Malik R, Krockenberger N, Cross G, Donely R, Madill D, Black D, McWhirter P, Rozenwax A, Rose K, Alley M, Forshaw D, Russell-Brown I, Johnstone AC, Martin P, O'Brien CR, Love DN. Avian cryptococcosis. Med Mycol 2003; 41: 115-124.
- Medleau L, Greene C, Rakich P. Evaluation of ketoconazole and itraconazole for treatment of disseminated cryptococcosis. Am J Vet Res 1990; 51: 1454-1458.
- Medleau L, Jacobs G, Marks M. Itraconazole for treatment of the cryptococcosis. J Med Inter 1995; 9: 39-42.
- Mendoza L, Urbina A, Velásquez J. Cryptococcosis in a dog. Ciencia Veterinaria Costa Rica 1987; 9: 125-126.
- Noxon J, Monroe W, Chinn D. Ketoconazole therapy in canine and feline cryptococcosis. J Am Anim Hosp Assoc 1986; 22: 178-183.
- O'Brien C, Krockenberger B, Wigney D, Martin P, Malik R. Retrospective study of feline and canine cryptococcosis in Australia from 1981 to 2001: 195 cases. Med Mycol 2004; 42: 449-460.
- Rosichuk R, White S. Systemic infectious diseases and infestations that cause cutaneous lesion. Vet Med 1991; 86: 164-181.
- Silva V, Díaz MC, Febré N and Chilean Invasive Fungal Infections Group. Invasive fungal infections in Chile: a multicenter study of fungal prevalence and susceptibility during a 1-year period. Med Mycol 2004; 42: 333-340.
- Sorrel T. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*. Med Mycol 2001; 39: 155-168.