

Aislamiento de *Cryptococcus neoformans* variedad *gattii* en dos pacientes peruanos

Beatriz Bustamante Rufino¹ y Danielle Swinne²

¹ I.M.T. "A. von Humboldt", U.P.C.H., Apartado Postal 4314, Lima 100, Perú y ² I.M.T. "Prince Leopold", Anvers, Bélgica

Resumen

La ecología de *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* está restringida a las áreas tropicales y subtropicales a diferencia de la variedad *neoformans*, que es cosmopolita. Perú es un país con regiones geográficas de climas diferentes, algunas de las cuales reúnen condiciones para albergar esta variedad. Este estudio se realizó con el objetivo de determinar la posible presencia de esta variedad entre las cepas de *Cryptococcus neoformans* provenientes de pacientes. Se estudiaron 68 cepas. La variedad *gattii* fue identificada por su capacidad de utilizar D-prolina como fuente de nitrógeno. Dos cepas de *C. neoformans* aisladas de pacientes no inmunosuprimidos pertenecieron a la variedad *gattii*. Se describen los casos clínicos de los pacientes, uno con diagnóstico de criptococosis diseminada y el otro con meningitis criptocócica. En las regiones donde ambos pacientes fueron infectados, no se encuentra *Eucalyptus camaldulensis* ni *Eucalyptus tereticornis*, en asociación ecológica con la variedad *gattii*; por lo cual en Perú debe plantearse la presencia de otro nicho ecológico.

Palabras clave

Cryptococcus neoformans, Variedad *gattii*, Epidemiología, Perú

Cryptococcus neoformans var. *gattii* isolates from two Peruvian patients

Summary

The ecology of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* is restricted to tropical and subtropical areas whereas *C. neoformans* var. *neoformans* is cosmopolitan. Perú is a country with three different well defined geographic areas, some of them have the conditions for the presence of the variety *gattii*. In order to determine the presence of the two varieties of *C. neoformans* in Perú, we made the *C. neoformans* differentiation from the clinical isolates. *C. neoformans* var. *gattii* was identified by their ability to assimilate D-proline. We tested 68 strains; only two of them were recognized as the variety *gattii* and were recovered from two patients without any predisposing factor. We described the clinical spectrum of these two patients, who were diagnosed with disseminated cryptococcosis and cryptococcal meningitis. Neither the presence of *Eucalyptus camaldulensis* nor *Eucalyptus tereticornis* has been reported in Perú. So there should exist other ecologic niches for the presence of *C. neoformans* var. *gattii* in our country, different from those mentioned.

Key words

Cryptococcus neoformans, Variety *gattii*, Perú, Epidemiology

La criptococosis es una enfermedad micótica, cuyo número de casos ha aumentado coincidentemente con el incremento en el número de pacientes con sida. Su principal agente etiológico, *Cryptococcus neoformans*, es una levadura que tiene dos variedades: *C. neoformans* var. *neoformans* y *C. neoformans* var. *gattii*, que presentan diferencias morfológicas, bioquímicas, serológicas y epidemiológicas [1,2].

Los casos producidos por *C. neoformans* var. *neoformans* han sido descritos en todo el mundo y se han aislado de diferentes fuentes naturales, pero aquellas infecciones debidas a *C. neoformans* var. *gattii* están restringidas a las áreas tropicales y subtropicales [1] y hasta el momento solo han podido ser aislados de *Eucalyptus camaldulensis*, *Eucalyptus tereticornis*, de guano de murciélago y de una colmena de avispa, *Polybia occidentalis* [6-9].

Perú es un país con tres regiones geográficas con climas diferentes y bien definidos: Costa, Sierra (o región andina) y Selva. Existen zonas tanto tropicales como subtropicales, reuniendo así las condiciones climáticas para albergar *C. neoformans* var. *gattii*. Este trabajo se realizó con el fin de determinar la posible presencia de *C. neoformans* var. *gattii*, entre las cepas de *C. neoformans* provenientes de pacientes peruanos, y conocer su cuadro clínico

Dirección para correspondencia:
Dr. Beatriz Bustamante Rufino
I.M.T. "A. von Humboldt", U.P.C.H.,
Apartado Postal 4314, Lima 100, Perú

Aceptado para publicación el 13 de noviembre de 1997

y el área geográfica donde ellos fueron infectados.

Se estudiaron 68 cepas de *C. neoformans* aisladas de pacientes entre los años 1979 y junio 1995 y mantenidas en agar glucosado de Sabouraud, en la colección de hongos del Laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt" (Lima, Perú).

Los cultivos de *C. neoformans*, fueron identificados por su crecimiento a 37°C, producción de ureasa y auxonograma de carbón y nitrógeno. Las cepas fueron enviadas al Instituto de Medicina Tropical "Prince Leopold" de Amberes (Bélgica), con el fin de determinar su variedad. Se utilizó la prueba de asimilación de D-prolina, con incubación a 25°C y lectura a las 48 y 72 h. *C. neoformans* var. *gattii* fue identificada por la capacidad de usar este componente como fuente de nitrógeno [3]. Se revisaron y se describen las historias clínicas de aquellos pacientes en quienes se aisló *C. neoformans* var. *gattii*. De las 68 cepas de *C. neoformans* estudiadas, 66 fueron identificadas como *C. neoformans* var. *neoformans* y dos como *C. neoformans* var. *gattii*. Ambas cepas de la variedad *gattii* fueron aisladas de pacientes no inmunosuprimidos. Presentamos los cuadros clínicos de los dos pacientes con criptococosis por *C. neoformans* var. *gattii*.

Paciente N° 1. Paciente de sexo masculino, 56 años de edad, agricultor, natural y procedente de una pequeña localidad, perteneciente al departamento de Amazonas, situada en la selva peruana a 2.331 m de altitud, con una temperatura media de 14,5 °C. No había realizado viajes previos a otras localidades. Acudió al hospital con seis meses de enfermedad, presentando dolor y tumoración en el muslo derecho, sin compromiso del sistema nervioso central.

Los exámenes de laboratorio (hemograma, pruebas hepáticas, glucosa, urea sérica y creatinina) estuvieron dentro de los valores normales. La prueba de ELISA para VIH fue negativa. La radiografía de tórax fue normal.

Se aisló *C. neoformans* en el cultivo de una biopsia de músculo y tejido óseo. Los exámenes bioquímicos y citológicos del LCR no mostraron alteración alguna y los cultivos fueron negativos. Sin embargo, la prueba de aglutinación de partículas de látex para antígeno de *C. neoformans* fue positiva, con un título de 1:4096. El diagnóstico final fue el de criptococosis diseminada.

El paciente recibió anfotericina B (0,6 mg/kg interdiario) con una dosis total acumulativa de 945 mg asociada a 5-fluorocitosina (150 mg/kg/día) no evidenciándose mejoría alguna. Posteriormente el paciente solicitó su alta voluntaria y no pudo ser reevaluado.

Paciente N° 2 . Paciente de sexo masculino, 37 años de edad, agricultor y destilador de alcohol, proveniente de una ciudad perteneciente al departamento de Piura, situada en la región norte andina del Perú, a 2.200 m de altitud. Ingresó al hospital con 32 días de enfermedad caracterizada por meningoencefalitis crónica, con hipertensión endocraneana y parálisis del VI par craneal derecho.

En el estudio de LCR se encontró: leucocitos 6 células/mm³ (56% eran leucocitos polimorfonucleares), proteínas 142 mg por 100 ml, glucosa 42 mg por 100 ml. El examen directo con tinta china mostró levaduras con presencia de cápsula y se aisló *C. neoformans* en cultivo. El diagnóstico final fue el de meningitis criptocócica.

El paciente recibió anfotericina B en dosis total acumulativa de 1.150 mg. Al final del tratamiento, el paciente tuvo cura micológica, con dos cultivos de LCR negativos y mejoría clínica, quedando con un síndrome de

hipertensión endocraneana probablemente por hidrocefalia comunicante, como secuela.

Con el presente estudio se demuestra la presencia de ambas variedades de *C. neoformans* en el Perú. Estudios previos en otros países, indican que *C. neoformans* var. *gattii* es prevalente en las regiones tropicales y subtropicales y desde 1990 ha sido establecida su asociación ecológica específica con *E. camaldulensis* y posteriormente con *E. tereticornis* [4-6]. Esta variedad también ha sido aislada de heces de murciélagos, en estudios realizados en Brasil y en una oportunidad, en Uruguay, a partir de un avispero de *P. occidentalis* [7-9]. En las regiones donde ambos pacientes descritos en este trabajo fueron infectados se pueden encontrar árboles de *Eucalyptus globulus*, importados de Australia al Perú en 1865 [10] y desde entonces han sido usados para la reforestación por ser la especie de mejor adaptación a las condiciones climáticas de la sierra [11]. *E. tereticornis* y *E. camaldulensis*, procedentes de Australia, han tratado de introducirse en el Perú, pero cuando se han hecho estudios sobre su supervivencia en algunas estaciones experimentales de la sierra, se han obtenido bajos porcentajes de supervivencia [12]. Por este motivo ambas especies no están siendo utilizadas para reforestación en el Perú. Tampoco la búsqueda de *C. neoformans* a partir de diferentes órganos y material intestinal de murciélagos ha dado resultados positivos [13]. De 210 muestras estudiadas, provenientes de murciélagos de las tres regiones del Perú, en ninguna se aisló el hongo. Por lo tanto, en nuestro país debe plantearse la presencia de otro nicho ecológico para *C. neoformans* var. *gattii*, diferente de aquellos ya mencionados.

Por otro lado ha sido planteada la posibilidad que cada una de las variedades y aún cada serotipo esté ligado a un tipo clínico de criptococosis bien determinado [14]. En un estudio realizado por Speed y Dunt [15] sobre las diferencias clínicas y del huésped en relación a las infecciones con ambas variedades de *C. neoformans*, encontraron una asociación entre estado inmune y variedad de *C. neoformans*. Todos los pacientes que tuvieron infección por *C. neoformans* var. *gattii* eran personas aparentemente sanas y el 90% de los infectados por *C. neoformans* var. *neoformans* estaban inmunosuprimidos. Además, el compromiso cerebral solo se detectó en pacientes aparentemente sanos en infecciones profundas por *C. neoformans* var. *gattii* y estuvieron más propensos a tener compromiso focal del sistema nervioso central y secuela neurológica. La enfermedad pulmonar focal fue asociada con *C. neoformans* var. *gattii* y la enfermedad pulmonar extensa con *C. neoformans* var. *neoformans*. El aislamiento de *C. neoformans* de sangre y orina fue asociado con *C. neoformans* var. *neoformans* en huésped inmunosuprimido. Los autores plantean que estas interacciones podrían deberse a diferencias en virulencia, exposición o estado inmune del huésped o posiblemente a una combinación de ellas. Por su parte, Saag [16] sugiere que las diferencias en la incidencia y en los cuadros clínicos podrían deberse a las probables diferencias en la patogénesis de la infección causada por las dos variedades de *C. neoformans* y a las interacciones entre el huésped y el hongo.

Los estudios sobre la patogenicidad en animales y la sensibilidad antifúngica podrían ayudar a obtener un mejor conocimiento sobre el comportamiento de esta enfermedad en relación a las variedades de *C. neoformans*.

Bibliografía

1. Kwong-Chung KJ, Bennett JE. Epidemiologic differences between the two varieties of *C. neoformans*. Am J Epidemiology 1984; 120:123-130.
2. Swinne D, De Vroey C. Epidemiologie de la Cryptococcose. Rev Iber Micol 1987;4:77-83.
3. Dufait R, Velho R, De Vroey C. Rapid identification of the two varieties of *Cryptococcus neoformans* by D-Proline assimilation. Mykosen 1987;30:483.
4. Ellis DH, Pfeiffer T. Ecology, life cycle and infectious propagule of *Cryptococcus neoformans*. Lancet 1990;336:923-925.
5. Pfeiffer TJ, Ellis DH. Environmental isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from California. J Infect Dis 1991;163:929-930.
6. Pfeiffer TJ, Ellis DH. Environmental isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from *Eucalyptus tereticornis*. J Med Vet Mycol 1992;30:407-408.
7. Lazera MS, Wanke B, Nishikawa MM. Isolation of both varieties of *Cryptococcus neoformans* from saprophytic sources in the city of Rio de Janeiro, Brazil. J Med Vet Mycol 1993;31:449-454.
8. Gezuele E, Calegari L, Sanabria D, Davel G, Civita E. Isolation in Uruguay of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from a nest of the wasp *Polybia occidentalis*. Rev Iberoam Micol 1993;10:5-6.
9. Machado CC, Amaral AA, Severo LC. *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* isolado do solo. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1993;35:77-79.
10. Cabieses F. Apuntes de Medicina Tradicional. La racionalización de lo irracional. Lima, CONCYTEC, 1993: 257-261.
11. Malleux J. Mapa forestal del Perú. Universidad Agraria La Molina-Departamento de manejo forestal. Talleres de la oficina nacional de recursos naturales (ONERN). 1975.
12. Sanchez J, Gillis M. La investigación forestal realizada en el CICAFOR (Centro de Investigación y Capacitación Forestal)-Cajamarca. 1976-1980. CICAFOR, 1982.
13. Bustamante B, Swinne D, Castro C. First isolation of *Cryptococcus neoformans* from saprophytic sources in Perú. 13th Congress of the International Society for Human and Animal Mycology. Parma, Italia, 1997.
14. Levitz SM. The ecology of *Cryptococcus neoformans* and the epidemiology of cryptococcosis. Rev Infect Dis 1991;13:1163-1169.
15. Speed B, Dunt D. Clinical and host differences between infections with the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. Clin Infect Dis 1995;21:28-34.
16. Saag M. Editorial response: Clinical and host differences between infections with two varieties of *Cryptococcus neoformans*. Clin Infect Dis 1995;21:35-36.