

CORRESPONDENCE

VARIEDADES Y SEROTIPOS DE *Cryptococcus neoformans* EN PACIENTES CON SIDA Y NEUROCRİPTOCOCOSIS EN SÃO PAULO, BRASIL⁽¹⁾

La estructura inmunoquímica de la cápsula polisacárida de *Cryptococcus neoformans*, ha permitido definir los serotipos de esta levadura, los cuales han sido designados A, B, C⁶ y D²¹.

Numerosas diferencias, incluyendo diferente complejidad estructural del material capsular³, nichos ecológicos y epidemiología¹, metabolismo de la creatinina⁷ y afinidad a ciertos ácidos disacarboxílicos², entre otras, han permitido la clasificación actual de *C. neoformans* en dos variedades: *C. neoformans* variedad *neoformans* (comprende los serotipos A y D) y *C. neoformans* variedad *gattii* (comprende los serotipos B y C); y sus estados perfectos, *Filobasidiella neoformans* variedad *neoformans* y *Filobasidiella neoformans* variedad *bacillispora*, respectivamente⁸.

En un estudio que incluyó áreas geográficas de Europa, Asia, Africa, Hawai, Nueva Zelanda y América del Norte y del Sur, los aislamientos de *C. neoformans* correspondieron en un 70% a *C. neoformans* variedad *neoformans*. En relación a *C. neoformans* variedad *gattii* fue más común en regiones tropicales y subtropicales¹⁰.

En pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) prevalece *C. neoformans* variedad *neoformans*, incluyendo aislamientos de pacientes con el Síndrome, procedentes de áreas en las cuales *C. neoformans* variedad *gattii* ha sido frecuente^{4, 17, 20}.

Ha sido reportado que en Brasil, de muestras de casos humanos sin el Síndrome, y procedentes en su mayor parte del Estado de São Paulo, el serotipo B representó el 36%¹²; por esta razón, además de ser Criptococosis la micosis sistémica más encontrada entre pacientes con SIDA en

Brasil, actualmente, decidimos hacer un estudio para investigar la prevalencia de las variedades y serotipos de *C. neoformans* en estos pacientes, y conocer si existe alguna diferencia con relación a los datos de la literatura.

Con esa finalidad, durante 22 meses se estudiaron 28 aislamientos de *C. neoformans* provenientes de pacientes con SIDA y neurocriptococosis, internados en los Hospitales São Paulo, Emilio Ribas y Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira", de la ciudad de São Paulo, Brasil.

Los pacientes eran todos residentes de la ciudad de São Paulo, 25 del sexo masculino y 3 del sexo femenino, comprendidos entre 15 y 55 años.

Los aislamientos fueron obtenidos a partir del cultivo de líquido cefalorraquídeo en agar Sabouraud dextrosa y agar Sabouraud dextrosa más cloranfenicol al 0,05%. Fueron identificados por las pruebas de producción de ureasa, asimilación de nitrógeno y carbohidratos^{13, 14}, y la producción de pigmento marrón en los medios de Staib²⁰ y esculina⁵. Luego de identificadas, las cepas se mantuvieron a temperatura ambiente, y antes de investigar las variedades y serotipos, eran repicadas en agar Sabouraud dextrosa.

Para conocer las variedades de *C. neoformans* se emplearon métodos bioquímicos, seleccionándose los medios de agar glicina-cicloheximidario de fenol (GCP)¹⁹, y agar canavanina-glicina-azul de bromotimol (CGB), reemplazándose en este último L-canavanina por L-arginina⁹.

Apoyo financiero de FINEP, CNPq, CAPES.

(1) Parte de la tesis de Calvo M., B. — "Antígeno capsular, variedades y serotipos de *Cryptococcus neoformans*, en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida y neurocriptococosis, en São Paulo, Brasil" para la obtención del título de Master en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de la Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1988.

Para serotipificación de 25 de los 28 aislamientos fue realizada en la Sección de Micología Clínica del Laboratorio de Investigaciones Clínicas de Institutes of Health en Bethesda, Maryland, USA, por la técnica de aglutinación, según la metodología de esa sección.

Todos los *Cryptococcus* investigados resultaron ser *C. neoformans*. La variedad encontrada en todos los aislamientos fue *C. neoformans* variedad *neoformans*, hallándose concordancia de los resultados obtenidos entre los medios GCP y CGB, ya que en ambos se observó la misma variedad; cambios discretos en la coloración del medio, pero sin crecimiento, fueron considerados *C. neoformans* variedad *neoformans* en los dos medios, después de ser repetidos.

En relación al serotipo, prevaleció el A, el cual se encontró en 22 (88%) de los casos. Los 3 (11%) restantes no fueron serotipificables; sin embargo, también correspondieron a la variedad *neoformans*.

Estos resultados confirmaron las observaciones de otros autores en pacientes con SIDA^{4, 17}.

En Brasil, de casos sin el Síndrome, aislamientos de *C. neoformans* variedad *gattii* tienen una incidencia moderada¹⁵, sin embargo, esa variedad no fue hallada en pacientes con SIDA de nuestra casuística. Hasta ahora, *C. neoformans* variedad *gattii* ha sido señalado solamente en un caso de SIDA y Criptococosis en Brasil, encontrado en un paciente quien residía en Río de Janeiro¹⁸.

El predominio de *C. neoformans* variedad *neoformans* entre aislamientos de pacientes con SIDA, de áreas geográficas previamente conocidas como regiones de alta prevalencia para *C. neoformans* variedad *gattii*, ejemplo de estas Africa Central¹⁶ y sur de California¹¹, es un fenómeno enigmático. Para investigar la posibilidad de un fenómeno "switch" de la variedad *gattii* dentro de la variedad *neoformans*, han sido realizados estudios de hibridación entre aislamientos de pacientes con y sin SIDA, no observándose diferencias genéticas significantes¹¹.

En nuestro medio el porcentaje de *C. neoformans* variedad *gattii* en pacientes sin SIDA se

mantiene, tal como lo demuestran estudios antes¹² y después¹⁵ de aparecer el Síndrome, lo cual también ha sido señalado al sur de California¹¹.

En cuanto a las 3 cepas no serotificables, podrían ser aislamientos antigenéticamente deficientes, como fueron consideradas unas cepas semejantes, referidas en otra investigación²¹.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. K. J. Kwon-Chung por la serotipificación de los aislamientos en la Sección de Micología Clínica del Laboratorio de Investigaciones Clínicas de Institutes of Health en Bethesda, Maryland, USA.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BENNETT, J. E.; KWON-CHUNG, K. J. & HOWARD, D. H. — Epidemiological differences among serotypes of *Cryptococcus neoformans*. *Amer. J. Epidem.*, 105: 582-586, 1977.
2. BENNETT, J. E.; KWON-CHUNG, K. J. & THEODORE, T. S. — Biochemical differences between serotypes of *Cryptococcus neoformans*. *Sabouraudia*, 16: 167-174, 1978.
3. BHATTACHARJEE, A. K.; BENNETT, J. E. & GLAUMANS, C. P. J. — Capsular polysaccharides of *Cryptococcus neoformans*. *Rev. infect. Dis.*, 6: 619-624, 1984.
4. BOTTONE, E. J.; SALKIN, I. F.; HURD, N. J. & WORSMER, G. I. — Serogroup distribution of *Cryptococcus neoformans* in patients with AIDS. *J. infect. Dis.*, 156: 212, 1987.
5. EDBERG, S.; CHASKES, S. J.; ALTURE-WERBER, E. & SINGER, J. M. — Esculin-based medium for isolation and identification of *Cryptococcus neoformans*. *J. clin. Microbiol.*, 12: 332-335, 1980.
6. EVANS, E. E. — The antigenic composition of *Cryptococcus neoformans*. I. A serologic classification by means of the capsular and agglutination reactions. *J. Immunol.*, 64: 423-430, 1950.
7. KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. & THEODORE, T. S. — *Cryptococcus bacillisporus* sp. nov.: Serotype B-C of *Cryptococcus neoformans*. *Int. J. Syst. Bact.*, 28: 616-620, 1978.
8. KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. & RHODES, J. C. — Taxonomic studies on *Filobasidiella* species and their anamorphs. *Antonie v. Leeuwenhoek*, 48: 25-38, 1982.

9. KWON-CHUNG, K. J.; POLACHEK, I. & BENNETT, J. E. — Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* variedad *neoformans* (Serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* variedad *gattii* (Serotypes B and C). *J. clin. Microbiol.*, 15: 535-537, 1982.
10. KWON-CHUNG, K. J. & BENNETT, J. E. — Epidemiologic differences between the two varieties of *Cryptococcus neoformans*. *Amer. J. Epidem.*, 120: 126-130, 1984.
11. KWON-CHUNG, K. J.; VARMA, A. K. & HOWARD, D. H. — Ecology and epidemiology of *Cryptococcus neoformans*: a recent study of isolates in the United States. In: TORRES-RODRIGUEZ, J. M., ed. CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY AND ANIMAL MICOLOGY, 10., ISHAN. *Proceedings Barcelona, Spain, Prous Science*, 1988. p. 107-112.
12. LACAZ, C. S. & RODRIGUES, M. C. — Serotipagem do *Cryptococcus neoformans*. *Rev. bras. Med.*, 40: 297-300, 1983.
13. LACAZ, C. S.; PORTO, E. & MARTINS, J. E. C. — *Criptococose*. In: LACAZ, C. S.; PORTO, E. & MARTINS, J. E. C. — *Micologia médica. Fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. 7. ed. São Paulo, Sarvier, 1984. p. 225-233.
14. LACAZ, C. S.; PORTO, E. & MARTINS, J. E. C. — Técnicas micológicas e imunológicas. Preparo de antígenos micóticos. In: LACAZ, C. S.; PORTO, E. & MARTINS, J. E. C. — *Micologia médica. Fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. 7. ed. São Paulo, Sarvier, 1984. p. 403-447.
15. PAULA, C. R.; ITO, C. H.; PURCHIO, A.; GAMBALE, W.; CORREA, B. & MINAMI, P. S. — Biochemical serotyping and other physiological characteristics of 40 *Cryptococcus neoformans* samples isolated from clinical materials in Brazil. *Rev. ibér. Micol.*, 5 (Suppl. 1): 105, 1988. (Abstract P-219).
16. POLACHEK, I. & MUYEMBE, T. — The prevalence of cryptococcal serotypes in Zaire. *Rev. ibér. Micol.*, 5 (Suppl. 1): 47, 1988. (Abstract O-145).
17. RINALDI, M. G.; DRUTZ, D. J.; HOWELL, A.; SANDE, M. A.; WOFSEY, C. B. & HADLEY, W. K. — Serotypes of *Cryptococcus neoformans* in patients with AIDS. *J. infect. Dis.*, 153: 642, 1986.
18. ROZENBAUM, R.; GONÇALVES, A. J. R.; WANKE, B.; VIEIRA, W.; CLEMENTE, H.; LAZERA, M.; MONTEIRO, P. C. F.; CAIUBY, J. M. & DE VROEY, C. H. — Infecção por *Cryptococcus neoformans* variedade *gattii* na síndrome da imunodeficiência adquirida. *Rev. Soc. bras. Med. trop.*, 22 (Supl.): 158, 1989. (Abstract 114).
19. SALKIN, I. F. & HURD, N. — New medium for differentiation of *Cryptococcus neoformans* serotype pairs. *J. clin. Microbiol.*, 15: 169-171, 1982.
20. STAIB, F.; SEIBOLD, M.; ANTWEILER, E.; FROHLICH, B.; WEBER, S. & BLISSE, A. — The brown colour effect (BCE) of *Cryptococcus neoformans* in the diagnosis, control and epidemiology of *C. neoformans* infections in AIDS patients. *Zbl. Bakt. Hyg. A.*, 266: 167-177, 1987.
21. WILSON, D. E.; BENNETT, J. E. & BAILEY, J. W. — Serologic grouping of *Cryptococcus neoformans*. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)*, 127: 820-830, 1968.

Recebido para publicação em 23/6/1989.

Disciplina de Micología y de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias
Escola Paulista de Medicina
Rua Botucatu, 740, 04023 São Paulo, SP, Brasil
Hospital Emílio Ribas
São Paulo, SP, Brasil

Belinda CALVO
Olga FISCHMAN
Antonio PIGNATARI
Rosana DEL BIANCO
Luiz ZAROR