

VALOR DE LOS METODOS DIRECTOS E INDIRECTOS DE DIAGNÓSTICO EN LAS MICOSIS SISTÉMICAS ASOCIADAS AL SIDA.

A.I. ARECHAVALA, A.M. ROBLES, R. NEGRONI, M.H. BIANCHI & A. TABORDA

RESUMEN

Durante 5 años se estudiaron 117 pacientes con micosis sistémicas asociadas al SIDA: 74 criptococosis, 39 histoplasmosis y 4 con ambas enfermedades. Para el diagnóstico analizamos los siguientes materiales: escarificaciones de lesiones cutáneas o mucosas, aspirados de médula ósea, secreciones bronquiales, biopsias de diversos órganos, líquido cefalorraquídeo, hemocultivos y sueros para determinaciones serológicas. Fueron estudiadas en total 203 muestras de pacientes con histoplasmosis, el 46.3% de las mismas acusó la presencia de *H. capsulatum*. Las escarificaciones cutáneas exhibieron la mayor sensibilidad (94.7%), seguidas por las biopsias (80%) y los mielocultivos (42.1%). La demostración de anticuerpos circulantes por medio de 3 pruebas serológicas y con de 2 antígenos específicos dio resultados positivos en el 45.4% de los pacientes. Se estudiaron en total 413 especímenes de pacientes con criptococosis, la confirmación diagnóstica fue posible en el 69% de las muestras. El mayor rendimiento se obtuvo con el LCR (89.5%), le siguieron en sensibilidad los hemocultivos (61.2%), las escarificaciones cutáneas (42.9%) y los urocultivos (41.7%). La búsqueda de antígeno en los fluidos orgánicos fue positiva en casi todos los casos. La revisión que presentamos permitirá una búsqueda más racional y rápida de los métodos de diagnóstico en las micosis asociadas al SIDA.

UNITERMOS: Histoplasmosis; Criptococosis; Micosis y SIDA.

INTRODUCCIÓN

La criptococosis es la micosis sistémica asociada al SIDA que se presenta con mayor frecuencia en todo el mundo. La incidencia relativa de esta micosis no es igual en todas las áreas. En los Estados Unidos es observada en el 10% de los casos de SIDA⁽³⁾ en tanto que en Africa llega al 20% en algunas zonas⁽²⁰⁾. El diagnóstico de laboratorio de esta infección tiene un gran interés debido a su gravedad y su cuadro clínico poco característico^(4,6,10,27). Si bien la mayor parte de los casos de criptococosis se presenta como meningoencefalitis, se han comprobado casos de criptococcemia sin ataque al sistema nervioso central, así como enfermos que sólo presentaron fiebre e infiltrados pulmonares^(5,7,13).

La histoplasmosis fue reconocida como enfermedad marcador del SIDA en las áreas donde es endémica^(2,15,28,29). Su frecuencia relativa parece ser similar en los Estados Unidos y en la Argentina (5 a 6% de los casos de SIDA). La mayoría de los pacientes exhiben la forma diseminada subaguda

de histoplasmosis con localizaciones múltiples. Las manifestaciones clínicas más frecuentes en nuestros pacientes fueron lesiones cutáneas, fiebre, pérdida de peso y anemia, le siguieron hepatosplenomegalia, adenomegalias y úlceras mucosas. El pronóstico de esta micosis es grave aunque, en general, la respuesta al tratamiento antifúngico es algo mejor que la observada en criptococosis^(9,24).

Este trabajo es un estudio retrospectivo destinado a valorar el índice de positividad de los exámenes micológicos y serológicos realizados con el propósito de diagnosticar ambas micosis en enfermos con SIDA.

Las muestras fueron seleccionadas de acuerdo a las manifestaciones clínicas de la infección. Teniendo en cuenta que la criptococosis y la histoplasmosis asociadas al SIDA se manifiestan como infecciones generalizadas fueron examinados, con frecuencia, hemocultivos.

MATERIALES Y METODOS

1. Pacientes:

En un lapso de 5 años se estudiaron un total de 117 pacientes con SIDA, de los cuales 74 padecían criptococosis, 39 histoplasmosis y 4 presentaban ambas afecciones.

Los enfermos con histoplasmosis tenían edades comprendidas entre los 18 y los 48 años, con una media de 31 años y los de criptococosis entre 18 y 47 años, con un promedio de 27.4 años de edad.

Nueve de los 78 enfermos de criptococosis (11.5%) y 4 de las 43 histoplasmosis fueron de sexo femenino (9.3%).

2. Métodos de diagnóstico:

2.1. Materiales analizados.

a) **Escarificaciones cutáneas y mucosas:** Se realizó una anestesia local de la zona con lidocaína al 1%. La antisepsia de la piel se llevó a cabo con solución de povidona-yodo al 1% y se procedió a eliminar las costras o secreciones superficiales con una gasa estéril embebida en solución salina isotónica estéril. Seguidamente, se raspó el fondo de la úlcera con una hoja de bisturí descartable y el material obtenido se dispuso sobre 3 portaobjetos esterilizados a la llama. El resto del material extraído se suspendió en un tubo con agua destilada estéril para cultivo posterior.

b) **Médula ósea:** Se procesaron materiales obtenidos por punción de médula ósea, recogidos con heparina en tubos estériles. Parte de estas muestras fueron destinadas a la realización de extendidos para exámenes microscópicos y el remanente fue cultivado.

c) **Secreciones bronquiales:** Se recibieron muestras de expectoración, lavado bronquial y lavado broncoalveolar en frascos estériles. Los dos últimos materiales se centrifugaron a 2000 rpm durante 5 minutos. Con el sedimento se efectuaron los exámenes microscópicos y los cultivos.

d) **Biopsias:** Estas fueron divididas en dos porciones, una se colocó en formol al 10% para el estudio histopatológico y la otra en un frasco estéril con agua destilada para el examen micológico.

e) **Líquido cefalorraquídeo:** Obtenido por punción lumbar, la muestra fue centrifugada a 2000 rpm durante 5 minutos y con el sedimento se realizaron exámenes microscópicos y cultivos. Parte del sobrenadante se conservó a -20°C para el dosaje de antígenos polisacáridos del *C. neoformans*.

f) **Orina:** Se obtuvieron las muestras en frascos estériles, previa higiene de los genitales externos y eliminación del primer chorro de orina. Las muestras fueron centrifugadas a 2000 rpm durante 5 minutos y el sedimento fue empleado para los estudios microscópicos y los cultivos. El sobrenadante se utilizó para la búsqueda de antígeno del *C. neoformans*, previa conservación a -20°C. En algunos casos se realizó masaje prostático previo.

g) **Hemocultivos:** La antisepsia de la piel fue realizada con povidonayodo al 1% y se obtuvieron muestras de sangre venosa, de 5 a 8 ml cada una. Estas fueron sembradas inmediatamente en frascos con medio de caldo tripteína soya. El volumen de sangre cultivada estuvo en relación del 10% con respecto al medio de cultivo.

h) **Sueros:** Se extrajeron 10 ml de sangre venosa, sin anticoagulante. El suero fue separado por centrifugación, fueron descartados los sueros hemolizados y los restantes se conservaron a -20°C.

2.2. Exámenes microscópicos.

a) **Preparaciones al estado fresco:** Se colocó una gota del material entre porta y cubreobjetos. En el caso de biopsias se preparó una impronta sobre un portaobjetos esterilizado a la llama. El examen microscópico se llevó a cabo con 100 y 400 aumentos. En el caso de los líquidos cefalorraquídeos, esta preparación fue realizada con una gota de tinta china diluida. Esta se preparó mezclando partes iguales de tinta china Pelikan® con agua destilada estéril y se le agregaron mertiolato de sodio hasta concentración final 1/10000 y tween 80 al 1%.

b) **Coloración de Giemsa:** Las preparaciones fueron fijadas con metanol y teñidas con solución de Giemsa Merck® al 10% durante 30 minutos.

En algunos casos se efectuaron preparaciones teñidas por los métodos de Ziehl-Neelsen y Gram.

2.3. Cultivos:

Todos los materiales excepto los hemocultivos fueron sembrados en los siguientes medios: agar-miel de Sabouraud (miel al 4% y extracto de levadura al 0.5%), agar-infusión de cerebro y corazón y agar caldo glicerinado al 5%. Los dos primeros fueron adicionados de estreptomycin y cloranfenicol hasta una concentración final de 100 µg/ml. Los materiales sembrados en medio de Sabouraud se incubaron a 28°C en tanto que los restantes medios se mantuvieron a 37°C. El desarrollo de hongos fue controlado semanalmente hasta 4 semanas.

Los hemocultivos se incubaron a 37°C y se efectuaron resiembras en agar-miel de Sabouraud a los 4 y a los 14 días posteriores, éstos se controlaron diariamente durante 15 días.

La identificación de las colonias se llevó a cabo por el estudio macromorfológico y micromorfológico, este último realizado en preparaciones montadas con azul de lactofenol o tinta china. En el caso de comprobarse el desarrollo de levaduras capsuladas se llevaron a cabo los siguientes estudios: reacción de ureasa en medio de Christensen, auxanograma de carbono y de nitrógeno según un método expuesto con anterioridad⁽¹⁹⁾ con soluciones de azúcares al 20% y de nitrato de potasio al 2%, determinación de fenoloxidasas en medio de extracto de semilla de girasol⁽¹⁾ y estudio de pares serotípicos en medio de SALKIN & HURD⁽²⁴⁾.

2.4. Métodos indirectos:

a) Se realizó la búsqueda de anticuerpos séricos contra *H. capsulatum* por medio de las

pruebas de inmunodifusión en gel de agar, conrainmunolectroforesis en gel de agarosa y prueba de fijación de complemento por microtitulación, las técnicas utilizadas fueron las recomendadas por la Organización Panamericana de la Salud^(16,17) y ZAROR et al.⁽³⁰⁾. Los antígenos empleados fueron un reactivo metabólico de la fase filamentosa y otro citoplasmático de la fase levaduriforme, sus procedimientos de obtención han sido expuestos en trabajos anteriores^(21,22).

b) Se detectaron antígenos circulantes de *Cryptococcus* en muestras de suero, líquido cefalorraquídeo y orina por medio de pruebas de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas (Latex-Crypto Antigen Detection System, IMMY® CR-1005. Immuno-Mycologics. Norman OK, USA).

RESULTADOS

a) Histoplasmosis:

En la tabla N° 1 se presentan los resultados de las 203 muestras que sirvieron para el diagnóstico de los 43 casos de histoplasmosis.

Se obtuvieron resultados positivos en más de un tipo de muestra en 30 pacientes (69.8%). Estos datos se presentan en la tabla N° 2.

Del total de enfermos diagnosticados con un solo tipo de muestra, 8 fueron escarificaciones cutáneas, 3 biopsias, 1 médulocultivo y 1 lavado broncoalveolar. En los restantes pacientes, las asociaciones de materiales positivos más frecuentes fueron: escarificación cutánea y serología positiva en 15 casos, escarificación cutánea y hemocultivo

Tabla 1

Resultados del estudio de 203 exámenes micológicos en 43 pacientes con histoplasmosis asociada al SIDA

TIPO DE MUESTRA	POSITIVA	NEGATIVA	% DE POSITIVIDAD
Escarificación cutánea	36	2	94.7
Mielocultivo	8	11	42.1
Biopsia	12	3	80.0
Secreción bronquial	5	19	20.8
Hemocultivo	12	23	34.2
LCR	1	21	4.5
Otros materiales	4	11	26.7
Serología	15	18	45.4

en 11 enfermos y escarificación cutáneo y mielocultivo en 6 casos.

Las pruebas serológicas se llevaron a cabo en 35 pacientes, sus resultados se exponen en la tabla Nº 3.

b) Criptococosis:

En la tabla Nº 4 se consignan los resultados de las 413 muestras analizadas para el diagnóstico de los 78 casos de criptococosis.

En 63 de los 78 pacientes con criptococosis (80.8%) se encontraron resultados positivos en más de un tipo de muestra examinada. Los datos se consignan en la tabla Nº 5.

En 15 pacientes se encontró *C. neoformans* en una sola muestra, éstas fueron: líquido cefalorraquídeo 6, hemocultivos 6, lavado broncoalveolar 1, esputo 1 y líquido pleural 1. Los

otros materiales en los cuales se cultivó *C. neoformans* fueron: biopsia hepática en 2 casos, pus de flemón 1 y secreciones bronquiales en 2 pacientes.

CONCLUSIONES

En un trabajo anterior pudimos comprobar que la histoplasmosis asociada al SIDA presenta, en nuestro medio, manifestaciones generales tales como fiebre, pérdida de peso y anemia en el 100% de los casos y síntomas focales como lesiones cutáneas (23/25 pacientes) pulmonares (19/25), hepatosplenomegalia (16/25), adenomegalias (15/25) y úlceras mucosas en 6⁽²³⁾.

Teniendo en cuenta estas características, las escarificaciones cutáneas resultaron ser el estudio

Tabla 2

Resultados positivos en varias muestras en 43 casos de histoplasmosis asociada al SIDA

Número de muestras	Número de pacientes	%
4	5	11.7
3	13	30.2
2	12	27.9
Total de pacientes	30	69.8

Tabla 3

Resultados de las pruebas serologicas en pacientes con histoplasmosis asociada a SIDA

Tipo de reacción Serologica	Resultado Positivo	% de positividad
Inmunodifusión	10/33	30.3
Contrainmuno-electroforesis	15/35	42.8
Fijación de complemento	11/26	42.3

Se consideraron como resultados positivos a los que reaccionaron con cualquiera de los dos antígenos utilizados

Tabla 4

Resultado del estudio de 413 muestras para el diagnostico de 78 casos de criptococosis y SIDA

Tipo de muestra	Positivas		Negativas		% de positividad	
	D*	C*	D	C	D	C
LCR	56	60	11	7	83.6	89.5
Hemocultivo		41		26		61.2
Orina	17	20	31	28	35.4	41.7
Mielocultivo		1		4		20.0
Escarif. cutáneo	4	3	16	4	20.0	42.9
Secreción bronquial	3	5	26	22	10.3	18.5
Otros materiales	2	4	15	13	11.8	23.5
Deteccion de antígenos						
LCR		56		4		93.3
Suero		51		1		98.1
Orina		43		6		87.7

* D: Examen directo; C: Cultivos.

Tabla 5

Resultados positivos en mas de un tipo de muestra en 78 casos de criptococosis asociada a SIDA

Numero de muestras positivas	Numero de pacientes	%
6	5	6.5
5	7	9.0
4	9	11.5
3	22	28.2
2	20	25.6
Total de pacientes	63	80.8

de mayor rendimiento con 94.7% de positividad. Igualmente fueron útiles las biopsias de lesiones mucosas y ganglionares (80%).

Los mielocultivos y los hemocultivos pueden resultar materiales de interés diagnóstico, dado que su porcentaje de eficacia es del 42.1% y 34.2% respectivamente. Son particularmente importantes en los pacientes que no presentan lesiones focales fácilmente abordables y su realización frecuente ha permitido también el diagnóstico de criptococosis asociada en 4 casos.

A pesar de tratarse de pacientes con graves trastornos de la inmunidad mediada por células, cuya integridad es necesaria para el procesamiento de los antígenos de *H. capsulatum*, se obtuvo un 45.4% de resultados positivos con alguna de las tres técnicas serológicas empleadas con dos reactivos diferentes. La contraelectroforesis resultó ser la prueba serológica más sensible.

La búsqueda de anticuerpos no ha sido realizada en forma sistemática en los pacientes con SIDA, la mayor parte de los autores sostiene que este procedimiento es poco útil debido a la frecuencia de falsos negativos. Proponen, en su reemplazo, la búsqueda del antígeno específico en muestras de suero y orina por radioinmunoensayo^(14,28).

Si se compara nuestra experiencia con la de otros países, particularmente en Estados Unidos^(11,12,18) llama la atención la elevada frecuencia de lesiones cutáneas en nuestros enfermos y su gran importancia diagnóstica.

En relación con este hallazgo hay dos interpretaciones posibles, en nuestros casos sólo se diagnosticaron aquellos que presentaban este tipo de lesiones o

el *H. capsulatum* de Sudamérica posee un elevado dermatotropismo. Si la primera aseveración fuese cierta tendríamos que haber observado un porcentaje más bajo de casos de histoplasmosis en pacientes con SIDA. Se diagnosticaron 43 casos en 979 enfermos con SIDA (4.4%). Este índice de positividad es similar al detectado en los Estados Unidos.

En un estudio previo, sobre 43 casos de criptococosis asociada a SIDA⁽²⁶⁾, pudimos comprobar que las manifestaciones clínicas más frecuentemente observadas fueron un síndrome infeccioso general con fiebre, decaimiento y pérdida de peso, un cuadro neurológico con cefalea, vómitos, alteraciones de la conciencia y manifestaciones respiratorias caracterizadas por tos e infiltrados pulmonares. Debe destacarse la ausencia de un síndrome meníngeo completo en la mayoría de estos enfermos y la existencia de criptococcemias sin compromiso del sistema nervioso central.

La visualización y el aislamiento del *C. neoformans* en el líquido cefalorraquídeo y la detección de antígeno polisacárido en los distintos fluidos orgánicos fueron los procedimientos de diagnóstico más sensibles. Merece ser destacado el elevado rendimiento para el diagnóstico de los hemocultivos (61.2%) y los urocultivos (41.7%). Estos resultados debe tenerse especialmente en cuenta en aquellos casos en los que es riesgosa la obtención de líquido cefalorraquídeo por punción lumbar debido a la existencia de un síndrome de hipertensión endocraneana muy marcado. Si se asocia la realización de hemocultivos y urocultivos con las determinaciones de antígeno capsular en suero y orina sería posible diagnosticar casi la totalidad de estos casos.

En el 80.8% de nuestros pacientes se obtuvieron resultados positivos en más de un tipo de muestra.

Estos hallazgos coinciden con el carácter de enfermedad diseminada y multifocal que presenta la criptococosis asociada al SIDA en diversas partes del mundo^(5,8,10,29). Sólo llama la atención la baja frecuencia de lesiones cutáneas, 4/78 casos (5.1%), si se la compara con la observada en otras áreas⁽²⁵⁾. La frecuencia relativa de criptococosis en SIDA que observamos en nuestros pacientes (78/979 casos, 8%) es semejante a la comprobada en otros países del hemisferio occidental⁽²⁾.

Finalmente merece destacarse el gran número

de muestras procesadas (616) para el diagnóstico de 117 casos de micosis sistémicas, lo que implica un considerable aumento de los costos así como de un incremento en la horas dedicadas al estudio de este tipo de enfermos.

Este trabajo es una revisión de lo realizado por la Unidad Micología del Hospital de Infecciones "Francisco J. Muñiz" de Buenos Aires y su propósito fundamental fue elaborar un protocolo a partir de los datos obtenidos, que permita reducir el número de muestras analizadas. De lo comprobado en este estudio podríamos sintetizar que en el caso de la histoplasmosis las escarificaciones cutáneas y el estudio de mielocultivos o biopsias de otras lesiones focales permitirán el diagnóstico de la mayor parte de los casos. En la criptococosis, la determinación de antígeno capsular en suero y el examen del líquido cefalorraquídeo en los pacientes con compromiso neurológico, serán suficientes en la mayoría de los casos.

SUMMARY

Efficacy of different diagnosis methods in systemic mycoses associated with AIDS

One hundred and seventeen patients suffering systemic mycosis and AIDS were studied during 5 years in the Muñiz Hospital of Buenos Aires City. Seventy four of them presented cryptococcosis, 39 histoplasmosis and 4 both mycoses.

The following specimens were studied for the diagnosis: skin and mucous membrane scrapings, bone marrow aspirations, bronchial secretions, biopsies of different organs, cerebral spinal fluid and blood cultures. Sera were also collected for serologic tests.

A total of 203 samples from patients with histoplasmosis were studied, 46.3% of them showed *H. capsulatum* in microscopic examinations or in cultures, skin scraping was the most sensitive diagnostic method (94.7% of positive results), followed by biopsies (80%) and bone marrow cultures (42.1%).

Specific antibodies were detected in 45.4% of the patients with histoplasmosis, using 2 different antigens and 3 types of serologic reactions (complement fixation test, immunodiffusion and counterimmunoelectrophoresis).

A total of 413 samples from patients with cryptococcosis were examined, 69% of them confirmed the diagnosis. The mycologic study of CSF was the most sensitive method of study, since it registered positive results in 89.5%, followed by blood cultures (61.2%), skin scrapings (42.9%), and urine cultures (41.7%). Polysaccharide antigens from *C. neoformans* in organic fluids were detected in almost all the cases.

The aim of this study is to compare all the suitable diagnostic methods which can be used in systemic mycosis associated with AIDS in order to find the most rapid way of diagnosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAVA, A.J. & NEGRONI, R. - Estudio epidemiológico sobre criptococosis en San Pedro (Prov. de Buenos Aires). *Rev. argent. Micol.*, 9 (3): 12-16, 1986.
2. CHANDLER, F.W. - Epidemiology of AIDS and its opportunistic infection. In: VANDEN BOSSCHE, H.; MACKENZIE, D.W.R.; CAUWENBERGH, G.; DROUHET, E.; DUPONT, B. & VAN CUTSEN, J. *Mycoses in AIDS patients*. New York, Plenum Press, 1990. p. 3-12.
3. DE VITA, V.T.; HELLMAN, S. & ROSEMBERG, S.A. - SIDA. Etiología, diagnóstico, tratamiento y prevención. Barcelona, Salvat Editores, 1986.
4. DIAMONT, R. - *Cryptococcus neoformans*. In: MANDELL, G.L.; DOUGLAS, G.R. & BENNETT, J.E. *Principles and practice of infectious diseases*. 3.ed. New York, Churchill Livingstone, 1989. p. 1980-1989.
5. DISMUKES, W.E. - Cryptococcal meningitis in patients with AIDS. *J. infect. Dis.*, 157: 624-628, 1988.
6. DUPONT, B. - Cryptococcosis. In: HAY, R.J. *Tropical fungal infections*. London, Baillière Tindall, 1989. (Bailliere's Clinical Tropical Medicine and Communicable Diseases, 4 (1): 113-124, 1989).
7. ENG, R.H.K.; BISHBURG, E.; SMITH, S.M. & KAPILA, R. - Cryptococcal infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Amer. J. Med.*, 81: 19-23, 1986.
8. ENG, R.H.K.; BISHBURG, E.; SMITH, S.M.; GELLER, H. & KAPILA, R. - Bacteriemia and fungemia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Amer. J. clin. Path.*, 86: 234-240, 1986.
9. GRAYBILL, J.R.; SHARKEY, R.K.; JOHNSON, P. & NIGHTINGALE, S. - The major endemic mycoses in the setting of AIDS patients. New York, Plenum Press, 1990. p. 179-190.
10. HAY, R.J. - Clinical manifestations and management of

- cryptococcosis in the compromised patient. In: WARNOCK, D.W. & RICHARDSON, M.D. *Fungal infections in the compromised patient*. Chischester, John Wiley & Sons, 1991. p. 83-115.
11. JOHNSON, P.C.; KHANDORI, N.; NAJJAR, A.; BULT, F.; MAUSELL, P.A. & SAROSI, G. - Progressive disseminated histoplasmosis in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Amer. J. Med.*, 85: 152-158, 1985.
 12. KALTER, D.; TSCHEN, J.A. & KILMAR, M. - Maculopapular rash in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Arch. Derm.*, 121: 1455-1460, 1985.
 13. KOVACS, J.A.; KOVACS, A.A.; POLIS, M.; WRIGHT, W.C.; GILL, V.J.; TUAZON, C.V.; GELMANN, E.P.; LANE, H.C.; LONGFIELD, R.; OVERTURF, C.; MACHER, A.M.; FAUCI, A.S.; PARRILLO, J.E.; BENNETT, J.E. & MASUR, H. - Cryptococcosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann. intern. Med.*, 103: 533-538, 1985.
 14. MACHER, A.M.; DE VINATEA, M.L.; TUUR, S. & ANGRITT, P. - AIDS and the mycoses. In: DRUTZ, D.J. *Systemic fungal infections: diagnosis and treatment I*. *Infect. Dis. Clin. N. Amer.*, 2: 827-839, 1988.
 15. MANDELL, W.; GOLDEBER, D.M. & NEW, H.C. - Histoplasmosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Amer. J. Med.*, 81: 974-978, 1986.
 16. MANUAL of standardized serodiagnostic procedures for systemic mycoses. Part I. Agar immunodiffusion test. Washington, D.C., Pan American Health Organization, 1972.
 17. MANUAL of standardized serodiagnostic procedures for systemic mycoses. Part II. The complement fixation test. Washington, D.C., Pan American Health Organization, 1974.
 18. MAYORAL, F. & PENNEYS, N.S. - Disseminated histoplasmosis presented as a transepidermal disorder in an AIDS victim. *J. Amer. Acad. Derm.*, 13: 842-844, 1985.
 19. NEGRONI, P. & NEGRONI, R. - *Micosis cutáneas y viscerales*. 9 ed. Buenos Aires, Lopez Libreros, 1990. p. 224-236.
 20. NEGRONI, R. - Micosis en pacientes con SIDA. *Rev. argent. Micol.*, 13 (1): 3-14, 1990.
 21. NEGRONI, R.; ELÍAS COSTA, M.R.I.; GOLFERA, H. & ARECHAVALA, A. - Estudio de dos antígenos de la fase levaduriforme del *Histoplasma capsulatum* para pruebas cutáneas. *Sabouraudia*, 17: 155-161, 1979.
 22. NEGRONI, R.; IOVANNITTI, C. & ROBLES, A.M. - Estudio de las reacciones serológicas cruzadas entre antígenos del *P. brasiliensis* y el *H. capsulatum*. *Rev. Asoc. argent. Microbiol.*, 8: 68-73, 1976.
 23. NEGRONI, R.; ROBLES, A.M.; ARECHAVALA, A. & TABORDA, A. - Histoplasmosis diseminada en pacientes con SIDA: su evolución y tratamiento. *Rev. argent. Micol.*, 14 (3): 5-12, 1991.
 24. NEGRONI, R.; TABORDA, A.; BENETUCCI, J.; DA BOUZA, J. & MACÍAS, J. - Manifestaciones cutáneo mucosas de la histoplasmosis en pacientes con SIDA. *Rev. argent. Derm.*, 71: 71-78, 1990.
 25. SALKIN, I. & HURD, N. - New medium for differentiation of *Cryptococcus neoformans* serotypes pairs. *J. clin. Microbiol.*, 15: 169-171, 1982.
 26. TABORDA, A.; NEGRONI, R.; ARECHAVALA, A. & ROBLES, A.M. - Criptococcosis asociada al SIDA. Estudio retrospectivo de 3 terapéuticas antifúngicas en 43 casos. *Rev. iberoamer. Micol.* (En prensa).
 27. VANDEPITTE, J. - Clinical aspects of cryptococcosis in patients with AIDS. In: VANDEN BOSSCHE, H.; MACKENZIE, D.W.R.; CAUWENBERGH, G.; DROUHET, E.; DUPONT, B. & VAN CUTSEN, J. *Mycoses in AIDS patients*. New York, Plenum Press, 1990. p. 115-122.
 28. WHEAT, L.J. - Histoplasmosis. In: DURTZ, D.J. *Systemic fungal infections: diagnosis and treatment I*. *Infect. Dis. Clin. N. Amer.*, 2: 842-859, 1988.
 29. WHEAT, L.J.; SLAMA, T.G. & ZECKEL, M. - Histoplasmosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Amer. J. Med.*, 78: 203-210, 1985.
 30. ZAROR, L.; ROBLES, A.M. & NEGRONI, R. - Pruebas de inmunodifusión en medios gelosados con el agregado de polietilenglicol 6000 para el serodiagnóstico de las micosis. *Rev. Asoc. argent. Microbiol.*, 10: 61-64, 1978.
 31. ZUGER, A. & HOLZMAN, R.S. - Cryptococcal disease in patients with the acquired immunodeficiency syndrome: diagnostic features and outcome of therapy. *Ann. intern. Med.*, 104: 234-240, 1986.

Recebido para publicação em 31/07/1992.
Aceito para publicação em 23/11/1992.