

Tabla de Contenidos

	<u>Pág.</u>
I RESUMEN	9
II INTRODUCCIÓN	10
III REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	10
3.1 Historia	14
3.2 Taxonomía	14
3.3 Serotipos	17
3.4 Factores de Virulencia	17
3.4.1 Crecimiento a 37 °C	17
3.4.2 Cápsula	18
3.4.3 Pareja sexual	19
3.4.4 Enzimas extracelulares	19
3.4.4.1 Proteinasas	19
3.4.4.2 Ureasas	20
3.4.4.3 Fosfolipasas	21
3.4.4.4 Fenoloxidasa	22
3.5 Cuadros Clínicos	26
3.5.1 Criptococosis pulmonar	26
3.5.2 Criptococosis meníngea	27
3.5.3 Criptococosis cutánea	29
3.5.4 Otros lugares de presentación de criptococosis	30
3.5.5 Criptococosis en animales	30
3.6 Epidemiología en el mundo y Chile	31
3.7 Hipótesis	31
3.8 Objetivo general	31
3.8.1 Objetivos específicos	32
IV MATERIALES Y MÉTODOS	32
4.1 Recolección de muestras.	33
4.2 Procesamiento de las muestras	35

4.3	Identificación de <i>Cryptococcus sp.</i>	35
4.3.1	Examen directo	36
4.3.2	Hidrólisis de Urea	36
4.3.3	Biotipificación de <i>C. gattii.</i>	37
4.4.	Identificación y cuantificación de los factores de virulencia	37
4.4.1	Actividad de proteinasas extracelulares	39
4.4.2	Actividad de fosfolipasas extracelulares	40
4.4.3	Medición Cualitativa de fenoloxidasa	42
V	RESULTADOS	42
5.1	Muestreo desde oquedades de árboles	45
5.2	Muestreo desde excretas de paloma.	48
5.3	Cuantificación de la actividad Proteolítica	53
5.4	Cuantificación de la actividad de fosfolipasas	58
5.5	Medición cualitativa de fenoloxidasa	61
VI	DISCUSIÓN	68
VII	CONCLUSIONES	69
VIII	BIBLIOGRAFÍA	83
IX	ANEXO	

Índice de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Sinónimos de <i>Cryptococcus neoformans</i> desde 1895 hasta 2000	11
Tabla 2. <i>Cryptococcus neoformans</i> y <i>C. gattii</i> . Variedades y serotipos	16
Tabla 3. Fase anamorfa (forma asexual) y fase teleomorfa (fase sexual)	17
Tabla 4. Localidades, y número de muestras aisladas desde oquedades de árboles. Cepas de <i>C. neoformans</i> y <i>C. gattii</i> identificadas.	43
Tabla 5. Localidades, y número de muestras aisladas desde excretas de palomas. Cepas de <i>C. neoformans</i> y <i>C. gattii</i> identificadas.	46
Tabla 6. Valor de actividad proteolítica por aislamiento desde oquedades de árboles.	48
Tabla 7. Distribución de las cepas de <i>C. neoformans</i> y <i>C. gattii</i> , aisladas desde oquedades de árboles, según índice de actividad proteolítica.	50
Tabla 8. Valor de actividad proteolítica por aislamiento desde excretas de palomas.	51
Tabla 9. Distribución de las cepas de <i>C. neoformans</i> y <i>C. gattii</i> , desde excretas de palomas, según índice de actividad proteolítica.	51
Tabla 10. Valor de actividad proteolítica de cepas control.	52
Tabla 11. Valor de actividad de fosfolipasas por aislamiento desde oquedades de los árboles.	54
Tabla 12. Distribución de las cepas de <i>C. neoformans</i> y <i>C. gattii</i> , aisladas desde oquedades de los árboles, según índice de actividad de fosfolipasas.	56
Tabla 13. Valor de actividad fosfolipasas por aislamiento desde excretas de palomas.	57
Tabla 14. Distribución las cepas de <i>Cryptococcus neoformans</i> y <i>C. gattii</i> , aisladas desde excretas de palomas, según índice de actividad fosfolipasa.	57
Tabla 15. Valor de actividad fosfolipasas de cepas control	58
Tabla 16. Distribución porcentual del grado de intensidad del color marrón provocado por la fenoloxidasa de cepas de <i>C. neoformans</i> y <i>C. gattii</i> aisladas desde oquedades de árboles y excretas de paloma.	59

Índice de Ilustraciones

	Pág.
Figura 1. Hisopado de muestras desde las oquedades de especies arbóreas.	32
Figura 2. Muestras de 5 gr. de excretas de plomas en 30 mL de suero fisiológico estéril	33
Figura 3. Crecimiento y pigmentación marrón de <i>Cryptococcus neoformans</i> ATCC 32045 en medio de Agar semillas de girasol.	34
Figura 4. Cápsulas de <i>C. neoformans</i> . Tinción negativa de cápsulas con tinta china (1000X).	35
Figura 5. Intensidad de la pigmentación sobre ASG, patrón usado para identificar grado de la enzima fenoloxidasa.	36
Figura 6. Colonias de color marrón en medio de Agar semillas de girasol, de muestras hisopada desde árboles.	41
Figura 7. Medios de Agar Urea de Christensen inclinados.	42
Figura 8. Árboles de muestreo, <i>Eucalyptus sp.</i> , <i>Sequoia sempervirens</i> .	
<i>Prunus cerasifera atropurpurea</i> (ciruelo morado) de Plaza de Armas Rancagua.	42 44
Figura 9. Medio CGB (Canavanina-Glicina Azul de Bromotimol).	44
Figura 10. Muestra CGB+ aislada desde la plaza de Armas de Rancagua.	
Figura 11. Estación de ferrocarriles Talca.	45
Figura 12. Plaza de Armas Rancagua.	45
Figura 13. Halos de proteólisis de una cepa <i>C. neoformans</i> aislada desde un árbol en la alameda de Rancagua.	47 47
Figura 14. Halos de proteólisis de una cepa <i>C. neoformans</i> aislada desde un árbol en la Plaza de Armas de Graneros.	52
Figura 15. Halos de hidrólisis por acción de las fosfolipasas de una cepa de <i>C. neoformans</i>	53
Figura 16. Cepa de <i>C. neoformans</i> con pigmentación marrón intensa.	56
Figura 17. Cepa de <i>C. neoformans</i> presentando una pigmentación marrón débil.	59

Figura 18. Cepa de *C. neoformans* presentando una pigmentación marrón intermedia. 60

60