



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS**  
**TSU HISTOTECNOLOGÍA**  
**TRABAJO MONOGRÁFICO**



**ACIDO PERYODICO DE SCHIFF PARA LA IDENTIFICACIÓN  
MORFODIAGNÓSTICA DE LA CRIPTOCOCOSIS PULMONAR**

**AUTOR**  
Chesman María

**TUTOR**  
Argüello Alcira

Naguanagua, Octubre 2021



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y  
TECNOLÓGICAS  
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**CONSTANCIA DE ENTREGA**

**ACIDO PERYODICO DE SCHIFF PARA LA IDENTIFICACIÓN  
MORFODIAGNÓSTICA DE LA CRIPTOCOCOSIS PULMON**

La presente es con la finalidad de hacer constar que el Trabajo Monográfico titulado:

**Presentado por la bachillere:**

CHESMAN, MARIA C.I: 25.780.333

Fue leído y se considera apto para su presentación desde el punto de vista metodológico, por lo que tienen el derecho de hacer la presentación final de su **TRABAJO MONOGRÁFICO**. Sin más a que hacer referencia, se firma a petición de la parte interesada a los \_\_\_\_ días del mes de \_\_\_\_\_ del año 2021.

**Nombre del tutor: Alcira Argüello**

**CI: 4.463.12**

---



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS  
TSU HISTOTECNOLOGÍA  
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**CONSTANCIA DE APROBACIÓN**

Los suscritos miembros del jurado designado para examinar el Informe Monográfico  
titulado:

**ACIDO PERYODICO DE SHIFF PARA LA IDENTIFICACIÓN  
MORFODIAGNÓSTICA DE LA CRIPTOCOCOSIS PULMONAR.**

**Presentado por la bachiller:**

CHESMAN, MARIA C.I: 25.780.333

Hacemos constar que hemos examinado y aprobado el mismo, y que, aunque no nos hacemos responsables de su contenido, lo encontramos correcto en su calidad y forma de presentación.

Fecha: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Profesor

\_\_\_\_\_  
Profesor

\_\_\_\_\_  
Profesor



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS**  
**TSU HISTOTECNOLOGÍA**  
**TRABAJO MONOGRÁFICO**



**ACIDO PERYODICO DE SHIFF PARA LA IDENTIFICACIÓN  
MORFODIAGNÓSTICA DE LA CRIPTOCOCOSIS PULMONAR.**

**AUTOR**  
CHESMAN, MARIA

**TUTOR**  
ARGÜELLO, ALCIRA  
**AÑO: 2021**

**RESUMEN**

La criptococosis, es una micosis sistémica oportunista causada por el *Cryptococcus neoformans*, que se caracteriza por ser asintomática y de fácil diseminación por vía linfática en pacientes inmunocomprometido, pudiendo ocasionar meningitis, encefalitis entre otras patologías. La principal vía de ingreso son las vías respiratorias siendo el pulmón el órgano principal afectado ocasionando la enfermedad. Por lo que, el diagnóstico se realiza en la observación de los tejidos utilizando el colorante diferencial del ácido peryódico de Schiff, el cual facilita el diagnóstico de esta patología, ya que la composición química de la cápsula del hongo, el polisacárido, evidencia a nivel tisular la morfología del agente etiológico estableciendo un diagnóstico precoz y pronóstico clínico. El siguiente trabajo tiene como objetivo general, analizar la importancia del ácido peryódico de Schiff para la identificación morfológica de la criptococosis pulmonar, el cual es una investigación tipo bibliográfica con diseño documental que lleva a concluir, que el ácido peryódico de Schiff permitirá observar ampliamente la reacción de los glucógenos, polisacáridos y mucopolisacáridos, típicos en tejido conjuntivo, moco, glicocálix y lámina basal, de igual forma por su reacción química facilita identificar la presencia de un grupo funcional presente en los carbohidratos.

**Palabras clave:** Criptococosis, Coloración, Pulmonar



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS  
TSU HISTOTECNOLOGÍA  
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**PERIODIC ACID OF SHIFF FOR THE MORPHODIAGNOSTIC  
IDENTIFICATION OF PULMONARY CRYPTOCOCCOSIS**

**AUTHORS:  
CHESMAN, MARIA**

**TUTOR SPECIALIST:  
ARGUELLO, ALCIRA  
YEAR: 2021**

**ABSTRACT**

Cryptococcosis is an opportunistic systemic mycosis caused by *Cryptococcus neoformans*, which is characterized by being asymptomatic and easily disseminated by the lymphatic pathway in immunocompromised patients, which can cause meningitis, encephalitis, among other pathologies. The main route of entry is the respiratory tract, the lung being the main organ affected causing the disease. Therefore, the diagnosis is made in the observation of the tissues using the differential stain of periodic acid Schiff, which facilitates the diagnosis of this pathology, since the chemical composition of the capsule of the fungus, the polysaccharide, evidence at the level tissue morphology of the etiological agent establishing an early diagnosis and clinical prognosis. The general objective of the following work is to analyze the importance of periodic acid of Schiff for the diagnostic morpho identification of pulmonary cryptococcosis, which is a bibliographic type investigation with documentary design that leads to the conclusion that periodic acid of Schiff will allow to observe widely the reaction of glycogens, polysaccharides and mucopolysaccharides, typical in connective tissue, mucus, glycocalyx and basal lamina, in the same way, due to its chemical reaction, it facilitates identifying the presence of a functional group present in carbohydrates.

Key words: Cryptococcosis, Coloration, Pulmonary.

## INDICE

	Pág.
CARTA DE ENTREGA.....	ii
CARTA DE APROBACION.....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT.....	v
INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	5
CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL <i>CRIPTOCOCUS NEOFORMANS</i> ...	8
TÉCNICA DE LA COLORACIÓN DIFERENCIAL DEL ÁCIDO PERYODICO DE SCHIFF (PAS).....	12
IMPORTANCIA DE LA COLORACIÓN DEL ÁCIDO PERYODICO o PAS.....	14
CONCLUSIONES.....	15
RECOMENDACIONES.....	17
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	18
ANEXOS	20

## INTRODUCCION

Las infecciones oportunistas son infecciones que ocurren con más frecuencia o son más graves en personas con debilidad del sistema inmunitario en comparación con quienes tienen un sistema inmunitario sano. El sistema inmunitario del cuerpo utiliza una serie de defensas para evitar o eliminar las infecciones. Las infecciones pueden ser causadas por una variedad de organismos, tales como bacterias, virus y hongos. El sistema inmunitario puede verse debilitado por una serie de enfermedades y sus tratamientos. Estos son algunos ejemplos de lo que puede debilitar las defensas inmunitarias del cuerpo, por lo que son muy conocidas en nuestra población especialmente en personas inmunocomprometidos ya que sus defensas inmunológicas se encuentran bajas.<sup>1</sup>

Esta infección micótica, era poco frecuente hasta la década de los ochenta, en que ha aumentado significativamente su tasa de incidencia debido a la aparición del síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (SIDA). (Kwon Chung, 1992). Alrededor del 5 al 10% de los pacientes con esta enfermedad ya avanzada se infectan con *Criptococcus*, de éstos el 90% desarrollan meningitis por *Criptococcus*, está claro que el sida es el grupo de riesgo más importante, seguido de los trasplantes, por lo que existen múltiples factores de riesgos.<sup>1</sup>

Los hongos son organismos eucariotas, se caracterizan por la formación de estructuras filamentosas y otros por presentar estructuras unicelulares como las levaduras, estas estructuras van a ser las formas invasivas patógenas para el humano produciendo alergias o infecciones fúngicas.<sup>2</sup>

Las enfermedades fúngicas están asociadas a elevadas tasas de morbilidad y mortalidad debido a lo dificultoso que es hacer un diagnóstico precoz, lo que conlleva a un retraso en la aplicación del tratamiento adecuado, por lo que se consideran una infección de tipo oportunista ya que acontece casi exclusivamente en el paciente inmunodeprimido y en el paciente crítico. Ahora bien, la criptococosis es una enfermedad micótica oportunista, grave, causada por *Criptococcus neoformans*, un hongo levaduriforme y encapsulado. Sus dos variedades; *Criptococcus neoformans* variedad *neoformans* (serotipos A y D)

*Cryptococcus neoformans* variedad *gattii* (serotipos B y C) son responsables de enfermedad en el hombre.<sup>2</sup>

La infección ocurre por inhalación del microorganismo presente en el excremento principalmente de las palomas. Produce una infección pulmonar inicial desde donde se disemina a otros órganos. Ahora bien, el *Cryptococcus neoformans* tiene una distribución universal y un marcado neurotropismo, soliendo dar lugar a infecciones cerebro meníngeas por diseminación hematogena desde un foco pulmonar primario. El *Cryptococcus gattii* tiene su hábitat natural en climas tropicales y subtropical. Por lo que, el *Cryptococcus neoformans* es una especie que afecta a personas inmunocompetentes y causa con mayor frecuencia infección respiratoria y diseminación, así como lesiones parenquimatosas, o criptococomas, que suelen localizarse en pulmón y cerebro.<sup>2</sup>

Por otra parte, el reservorio principal del *Cryptococcus neoformans* son los suelos contaminados con heces de aves, siendo las vías respiratorias el medio principal de ingreso a través de la inhalación, para finalmente alojarse en los pulmones. El revestimiento epitelial de las vías respiratorias, conjuntamente con el transporte mucociliar, forman parte de la primera línea de defensa del aparato respiratorio. Las condiciones que altera la integridad epitelial o afectan la eficiencia del transporte mucociliar conducen o favorecen la recurrencia de la enfermedad respiratoria.<sup>3</sup>

Se estima que actualmente a nivel mundial se presentan más de 1.000.000 de casos anuales de neurocriptococosis con un total de 625.000 fallecidos, la mayoría de los casos provienen de África. En países sin acceso, la incidencia de criptococosis es aun alta. Así mismo se reporta que hasta el 6% de las personas con deterioro de la función de la inmunidad celular debido a otras causas (como neoplasia, lupus eritematoso sistémico, trasplantes de órganos sólidos o médula ósea, diabetes, sarcoidosis, tratamiento con corticoides u otra medicación inmunosupresora) se encuentran en riesgo de presentar criptococosis.<sup>3</sup>

La incidencia de la criptococosis aumentó con el inicio del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) en la década de 1980. Tras el advenimiento de la terapia antirretroviral altamente efectiva (TARGA) desde mediados de 1990, su frecuencia comenzó a disminuir en los países desarrollados de esta manera en un estudio realizado en EEUU (Atlanta, Georgi

Houston, Texas) demuestra que la incidencia de la criptococosis disminuyó de 2,4 – 6,6% (1992-1993) a 0,2 -0,7% (2000), así mismo otro estudio en Francia demuestra una disminución del 46% en incidencia de criptococosis.<sup>3</sup>

El diagnóstico se realiza en la observación de los tejidos, pero como la mayoría de los tejidos, son incoloros, para ello se necesita teñirlos para observar sus características morfológicas. Por lo que, las tinciones generales están basadas en el uso de colorantes, los cuales son sustancias mediante las cuales se consigue colorear a los tejidos. En el resultado de la biopsia se observa un marcado infiltrado dérmico granulomatoso con múltiples microorganismos encapsulados visibles mediante tinciones especiales (PAS). Puesto que se deben emplear coloraciones especiales como la coloración del ácido periódico de Schiff, ya que esta reacción, revela todo tipo de carbohidratos (polisacáridos, como el glucógeno, mucopolisacáridos, glucolípidos, glucoproteínas etc.).

De igual manera, es evidente, que el conocimiento de estas especies de hongos causantes de enfermedades, permitirán orientar el diagnóstico clínico precoz, para su tratamiento oportuno, debido a que es una enfermedad asintomática, es decir, se puede confundir con cualquier otra enfermedad (tos, dolor torácico pleurítico, fiebre, pérdida de peso, etc.). Las pruebas a nivel clínico ofrecen una variabilidad para el diagnóstico de esta patología ya que suele ser empleada en cultivo de lesiones cutáneas, orina y líquido cefalorraquídeo (LCR). Así mismo se puede diagnosticar con la aplicación de la tinción de tinta china en el LCR. Pero es necesario cuando se halla en el tejido pulmonar, diagnosticar de forma precisa, ya que una radiografía torácica no arrojaría el resultado correcto.

De acuerdo con lo anterior descrito, la siguiente investigación tiene como objetivo general, analizar la importancia ácido periódico de Schiff para la identificación morfodiagnóstica de la criptococosis pulmonar y como objetivos específicos, reconocer las características morfológicas del *Cryptococcus neoformans*, describir la técnica de la coloración diferencial del ácido periódico de Schiff y profundizar en la importancia de una coloración especial en la criptococosis pulmonar en pacientes inmunocompetentes, ya que es una enfermedad que suele ser asintomática y puede invadir el sistema linfático afectando otros órganos y sistemas, trayendo como consecuencias, otras patologías resultando posiblemente la muerte de la persona.

La metodología de la investigación empleada en este informe monográfico es documental, la cual se centra únicamente en la recopilación de datos e información provenientes de varias fuentes, en las que se analizan y examinan documentos de otros autores, así mismo, la investigación posee un diseño bibliográfico, ya que, el diseño bibliográfico, se fundamenta en la revisión sistemática, rigurosa y profunda del material documental.

Desde el punto de vista teórico, esta investigación será un gran aporte, ya que permitirá conocer a fondo la importancia de la técnica del ácido peryódico de Schiff (PAS) para la identificación morfodiagnóstica de la criptococosis pulmonar la cual es causada por el *Criptococcus neoformans* y es característica de los pacientes inmunocompetentes y suele ser asintomática, de allí su alta peligrosidad. Además, internamente puede diseminarse fácilmente por vía hematogena a otros órganos como la piel, hueso y el sistema nervioso central (SNC), ocasionando la meningitis criptocócica, por lo que, la coloración del ácido peryódico de Schiff permitirá por su reacción histoquímica la identificación morfodiagnóstica del hongo.

## DESARROLLO

### Antecedentes de la Investigación

Según un trabajo realizado por Torres durante el año 2017 (Distintas formas de afección cutánea por *Cryptococcus* spp), la criptococosis es una micosis oportunista ocasionada por levaduras del género *Cryptococcus*. En aquellas personas que presentan alteración de la inmunidad celular este hongo puede ocasionar enfermedad. En estos pacientes el hongo puede proliferar en el sitio de infección inicial y desde allí afectar cualquier órgano o sistema a través del torrente sanguíneo. De la misma forma Mercedes Tello durante el año 2013 sostiene que el compromiso cutáneo por criptococosis siempre forma parte de una infección sistémica adquirida por vía inhalatoria, aun en los casos con lesiones únicas o localizadas.<sup>4</sup>

Por otro lado, Julia Benedetti sustenta la hipótesis de que existen cuadros clínicos con inoculación cutánea y afección exclusiva de la piel. De este modo, en esta investigación se analiza y compara la evolución de cuatro pacientes trasplantados, rivaliza investigaciones previas, métodos de laboratorio utilizados para realizar el diagnóstico y tratamientos posibles. El estudio histológico de las lesiones cutáneas evidenció infiltrados inflamatorios linfoplasmocitario con presencia de histiocitos y células gigantes multinucleadas que presentan en su interior elementos esferuloides positivos con PAS en la dermis e hipodermis.<sup>4</sup>

Esta información es una gran herramienta investigativa ya que se evidencia primeramente que los hongos son microorganismos comunes que se hallan en países con zonas de alta temperatura y humedad. Además, se observa que el ácido peryodico de Schiff diagnóstica cualquier hongo y evidencia el estado que se encuentre en el tejido, la tinción de PAS es una de las tinciones más comúnmente utilizada en histología y se utiliza para evidenciar la presencia de grupos aldehídos formados por oxidación previa de los hidratos de carbono ya que tiñe también el glucógeno de la membrana basal de epitelios, anexos, vasos y resalta otras estructuras y células de la piel.

Salazar et al. En su trabajo titulado “Criptococosis cutánea localizada en paciente trasplantada renal 2018 en Perú” sostiene que la criptococosis cutánea es una entidad infrecuente en pacientes receptores de trasplante de órganos sólidos (TOS). La forma cutánea localizada es descrita en pacientes inmunocomprometidos y probablemente sea secundaria a una reactivación de un estado latente en ganglios linfáticos o pulmón. El artículo presenta el caso de una mujer de 40 años receptora de trasplante renal hace 1 año, en inmunosupresión con tacrolimus y prednisona, que desarrolló en 1 semana lesión en cara interna de muslo izquierdo sugestiva de celulitis bacteriana. Se aisló *Cryptococcus neoformans* y se inició tratamiento antifúngico con respuesta favorable.<sup>5</sup>

El antecedente previamente mencionado es un aporte al trabajo monográfico ya que se evidencia la importancia de un diagnóstico diferencial para diagnosticar la criptococosis, además que se observa con claridad que metodologías clínicas comunes no son suficientes para poder alcanzar esos objetivos, la prueba favorecedora para obtenerlo es una biopsia de tejido pulmonar para tener un diagnóstico confiable.

Por otro lado, un estudio llevado a cabo por Sánchez et al. Sobre la infección fúngica invasiva en pacientes inmunosuprimidos durante el año 2016 describir las características demográficas y clínicas de pacientes inmunosuprimidos tratados con anti fúngicos. Su objetivo específico era observar y analizar los resultados de pacientes tratados con antifúngico, la metodología empleada fue un estudio descriptivo, en el que se incluyeron pacientes que recibieron tratamiento antifúngico, por sospecha de infecciones fúngicas invasivas y condición de inmunosupresión, llegando a la conclusión de que es importante sospechar de forma temprana la infecciones fúngica invasivas, así como establecer un algoritmo diagnóstico e instaurar el tratamiento antifúngico de manera anticipada para disminuir los desenlaces fatales.<sup>6</sup>

Este trabajo, aporta a la documentación presente el hecho de la importancia de obtener a nivel clínico un diagnóstico preciso, debido al incremento que ha tenido la criptococosis en países en vía de desarrollo y en zonas endémicas, ya que se crea el ambiente idóneo para la transmisión de la misma, además que al no obtener un diagnóstico preciso en el momento adecuado se corre el riesgo de la complicación de la sintomatología clínica del paciente que

puede tener consecuencias devastadoras en su salud y causarle la muerte. Es por ello que al tener un examen que cumpla los parámetros de precisión, eficacia y ser absoluto en el aporte del diagnóstico evitaría resultados irreversibles.

## CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS*

En los hongos, la reproducción puede ser asexual o sexual. La forma asexual resuta de la división de esporas sin que haya habido fertilización previa por unión del material nuclear. Este proceso se puede producir indefinidamente.

*Cryptococcus Neoformans* es el agente etiológico de la criptococosis, una enfermedad infecciosa que afecta a los humanos, animales domésticos y salvajes. Este patógeno se encuentra a menudo en los excrementos de palomas, que tienen innumerables fuentes; a su vez, posee varias morfologías que dependen del estado en que se halle, el estado mitospórico.

la reproducción asexual es la que representa el estado anamórfico de este hongo, esto debido a que se reproduce por germinación, el cual está caracterizado por la producción de células levaduriformes gemante (propágulos asexuales), que típicamente desarrollan una gran cápsula compuesta por polisacáridos.

El arreglo de los componentes capsulares determina alguno de los cuatro serotipos de la levadura: A, B, C o D. Las levaduras son redondas (4-6  $\mu\text{m}$  de diámetro) o en ocasiones ovaladas y excepcionalmente formadoras de pseudomicelio. Tanto las levaduras madre, como los blastoconidios se caracterizan por la presencia de cápsula. Al igual que el estado telemorfo o estado sexual del hongo que está caracterizado por la producción de basidiosporas (propágulos sexuales).<sup>7</sup>

La fase perfecta (micelial) de este hongo se denomina *Filobasidiella neoformans* o *Filobasidiella bacillisporus*. Nunca se ha aislado esta fase en los pacientes ni se la ha hallado en estado natural; únicamente se encuentra en el laboratorio bajo ciertas condiciones. *Filobasidiella* es un género de hongos de la familia *Tremellaceae*. Las especies son parásitas de otros hongos y no producen basidiocarpos (cuerpos frutales) distintos. El género es el estado teleomórfico (sexual) del género de levadura *Cryptococcus*, algunas especies de las cuales son patógenos humanos. El género *Filobasidiella* es un basidiomiceto, con dos tipos sexuales: "a" y "alfa" caracterizados por tener el miceli

hialino, consistente en hifas dicarióticas y un basidio alargado, portando basidiosporas sésiles y en cadena (gemación basípeta).

Las características más estudiadas sobre *Criptococcus neoformans* son la presencia de la cápsula polisacárido y la producción de melanina. El polisacárido capsular puede inhibir la producción de ciertas limosinas provocando respuestas tanto celular como humoral muy débiles, enlazar e inmovilizar parcialmente a los anticuerpos dirigidos contra la pared celular y la cápsula del hongo y, además, enmascarar a los anticuerpos.

En los humanos, el espectro de la enfermedad oscila desde la colonización asintomática de las vías respiratorias hasta la meningitis y otras enfermedades graves. *C. neoformans* var. *neoformans* es una infección oportunista que causa enfermedades en los pacientes inmunodeprimidos principalmente. En estos pacientes, puede existir poca inflamación y los síntomas pueden ser leves aún cuando la enfermedad es generalizada. Los pacientes que se infectan con *C. neoformans* var. *gattii* suelen ser inmunocompetentes.

Generalmente, la infección inicial se produce en los pulmones. La criptococosis pulmonar puede estar acompañada de enfermedad respiratoria o anomalías radiológicas, pero la mayoría de las infecciones son asintomáticas (tanto en pacientes inmunocompetentes como en pacientes inmunodeprimidos).

En los pacientes inmunocompetentes, *Criptococcus neoformans* puede causar tos y dolor torácico pleurítico. También se pueden notar fiebre baja, disnea, pérdida de peso y malestar. La mayoría de las infecciones sintomáticas son autolimitadas, pero se han informado infecciones crónicas y casos excepcionales de neumonía criptococócica fatal. En la mayoría de las personas sanas, la infección se circunscribe a los pulmones.

En los pacientes inmunodeprimidos, los síntomas de la criptococosis pulmonar pueden incluir fiebre, malestar, tos, dolor pleurítico, disnea, cefalea, pérdida de peso y rara vez hemoptisis. Se puede producir neumonía o síndrome de compromiso respiratorio agudo. En los pacientes inmunodeprimidos es más probable que la enfermedad pulmonar sea progresiva.

Después de la infección pulmonar inicial, *Cryptococcus neoformans* se puede propagar a otros órganos, especialmente en los pacientes inmunodeprimidos. El microorganismo se puede diseminar aún si la infección pulmonar es asintomática. En muchos pacientes, el primer síntoma de la criptococosis es la enfermedad diseminada.

La forma más frecuente de la criptococosis diseminada es la enfermedad del SNC, especialmente la meningitis crónica o subaguda y la meningoencefalitis. Los síntomas pueden incluir, cefalea, náusea, vómitos y cambios en el estado mental tales como cambios de personalidad, letargo o confusión. La fiebre y la rigidez de cuello son síntomas menos frecuentes. Además, se pueden observar convulsiones, ataxia, afasia, defectos auditivos, visión borrosa, fotofobia, otros tipos de déficit motriz o sensorial, y coma. La presión elevada del líquido cefalorraquídeo (LCR) puede causar hidrocefalia y demencia. Las infecciones del SNC que no reciben tratamiento resultan mortales en un plazo de días o meses.

En los pacientes inmunocompetentes se pueden producir meningitis/meningoencefalitis o lesiones masivas focales. Se suele asociar a la criptococosis con los síntomas neurológicos focales.

En los pacientes con SIDA, la presentación de la enfermedad es generalmente subaguda. En las fases iniciales, estos pacientes pueden mostrar pocos síntomas, o signos inespecíficos únicamente. Los síntomas comunes son cefalea y fiebre y, con menor frecuencia, alteraciones del estado mental. Las enfermedades focales del SNC son poco comunes en los pacientes con SIDA.

*Cryptococcus neoformans* puede provocar lesiones oculares, entre ellas neuritis óptica, coriorretinitis y endoftalmitis, puede causar diversas lesiones cutáneas, entre ellas pápulas, vesículas, bulas, úlceras, púrpura, masas subcutáneas similares a tumores y abscesos. Las lesiones pueden parecerse a las causadas por otras enfermedades, entre ellas el acné, los lipomas, la sífilis, la tuberculosis y el carcinoma basocelular. Los pacientes con VIH pueden mostrar pápulas umbilicadas que se asemejan al molluscum contagiosum. La celulitis es común en los receptores de transplantes de órganos. Las enfermedades cutáneas

pueden aparecer por si solas en personas sanas, pero en los pacientes inmunodeprimidos indican una enfermedad diseminada.

Entre los síndromes menos frecuentes se encuentran la osteomielitis, la artritis séptica, la hepatitis, la peritonitis, los abscesos renales, la prostatitis, la miositis y la gastroenteritis. En pacientes con SIDA, la invasión de las glándulas adrenales puede causar insuficiencia adrenal.

El diagnóstico clínico es difícil, ya que las formas de presentación son inespecíficas, al igual que las pruebas analíticas habituales, por lo que el diagnóstico definitivo va a ser el microbiológico. Esto es especialmente cierto en los casos de meningitis que se producen en los pacientes con sida, en los que el líquido cefalorraquídeo (LCR) no suele mostrar alteraciones o, caso de estar presentes, éstas son mínimas.

## **TÉCNICA DE LA COLORACIÓN DIFERENCIAL DEL ÁCIDO PERYODICO DE SCHIFF (PAS)**

La criptococosis se suele diagnosticar mediante la detección del microorganismo en tejidos o fluidos. En la enfermedad del SNC, se puede encontrar *C. neoformans* en el LCR.

Algunas veces se puede hallar *C. neoformans* en muestras clínicas por observación directa. Este microorganismo es una levadura encapsulada de 4 a 6  $\mu$ m y con forma redonda u ovoide. Está rodeada por una cápsula con forma de halo que se tiñe de color brillante con la mucicarmina de Mayer. En una preparación con tinta china se pueden observar las células de la levadura rodeadas por un halo claro (la cápsula); si no se nota germinación, se puede confundir al organismo con una gota grande u otro elemento. Otros métodos de tinción útiles incluyen la tinción con azul alsaciano, con plata metenamina de Gomori, con el ácido periódico de Schiff (PAS). Se puede identificar *C. neoformans* en los tejidos mediante inmunofluorescencia.

La técnica de la coloración diferencial del ácido periódico de Schiff es muy utilizada en la tinción de PAS-hematoxilina. Es un compuesto preparado a partir de fucsina básica (clorhidrato de pararosanilina), ácido clorhídrico y meta bisulfito sódico o potásico. Se utiliza tradicionalmente para detectar polisacáridos. Su reacción consiste en la demostración de una cadena de grupos aldehídos que se halla en las estructuras de los polisacáridos y mucopolisacáridos. Dicha demostración expondrá a nivel tisular una tonalidad de color rosa púrpura, característico de la reacción.<sup>8</sup>

Para la realización del reactivo de Schiff requiere dos preparaciones, el ácido periódico y el reactivo de Schiff. El ácido periódico al 0.5% requiere 0 gr de ácido periódico y 100 ml de agua destilada, por otro lado, para la dilución del reactivo se requiere llevar hasta ebullición el agua destilada, además se debe tomar 200 ml de agua destilada, agregar 1 gr de fucsina básica, y posteriormente mezclar. Una vez realizado lo descrito anteriormente, se debe dejar a enfriar a 50°C y para luego filtrar. Añadir 1 gr de meta sulfito de sodio que cumple la función de estabilizador, dejar en reposo por lo menos 24 horas en un frasco oscuro. Es digno de notar que esta solución debe tomar un tono de rosa pálido luego a ello agregar carbón activo que cumple la función de filtrar y decolorar.<sup>8</sup>

### **Técnica protocolar**

1) Desparafinar e hidratar hasta agua destilada. 2) Oxidar en la solución de ácido peryódico durante 5 minutos. 3) Enjuagar en agua destilada. 4) Colocar en el reactivo de Schiff durante 15 minutos. 5) Lavar en agua tibia por 10 minutos, hasta que el corte tome un color violeta. 6) Contrastar con la solución de hematoxilina de Mayer durante 15 minutos. 7) Lavar con agua corriente durante 15 min. 8) Deshidratar y aclarara a través de alcohol etílico al 95%, alcohol etílico absoluto y xilol, 2 cambios, 2 minutos encada uno. 9) Montar.<sup>8</sup>

**Resultado:** Sustancia PAS, de color rojo o purpura y núcleo Azul.

## IMPORTANCIA DE LA COLORACIÓN DEL ÁCIDO PERYODICO (PAS)

La tinción de PAS (Periodic Acid-Schiff) es una de las tinciones más comúnmente utilizada en histología y se utiliza para evidenciar la presencia de grupos aldehídos formados por oxidación previa de los hidratos de carbono.<sup>12</sup>

PAS, es la segunda técnica de tinción más utilizada después de HE, técnica que pone en evidencia algunos polisacáridos y mucopolisacáridos neutros tiñéndolos de rojo. Se utiliza para valorar la degeneración fibrinoide y facilita la visualización de agentes infecciosos que incluyen hongos, parásitos y bacterias que desencadenan padecimientos como botriomicosis y el actinomicetoma. Dado que PAS enfatiza la membrana basal de epitelios, anexos y vasos, puede ser útil para diferenciar o revelar algunos tipos celulares, como los histiocitos o la disposición del colágeno entre las células neoplásicas<sup>5</sup>. Asimismo, esta técnica puede utilizarse en casos de crioglobulinemia para identificar la presencia de crioglobulinas.<sup>11</sup>

La reacción de la técnica de PAS o ácido peryodico de Schiff es de suma importancia ya que esta se basa en la demostración de carbohidratos. La primera reacción en la tinción implica la acción del ácido peryódico como agente oxidante para oxidar los enlaces carbono-carbono entre dos grupos hidroxilo adyacente. Se liberan grupos aldehído que se detectan por el reactivo en la segunda reacción, la sección de tejido reacciona con el reactivo de Schiff. Éste comprende una mezcla de fucsina básica, ácido clorhídrico, y metabisulfito de sodio dando como resultado un ácido inestable que es incoloro, y en la presencia de los aldehídos adquiere un color púrpura.<sup>9</sup>

La intensidad del color es proporcional a la concentración de grupos hidroxilo originalmente presentes en las unidades de monosacárido. A continuación, la Hematoxilina se utiliza típicamente como una tinción de contraste para visualizar otros elementos en el tejido. La importancia de esta tinción es que gracias a ella se logran demostrar los compuestos como mucopolisacáridos y glucógeno para delimitar las membranas basales y poder evidenciar más a la mayoría de parásitos y hongos en este caso la *criptococosis*.<sup>10</sup>

## CONCLUSIONES

Se puede concluir que la criptococosis es difícil de diagnosticar ya que es un hongo y pruebas a nivel de laboratorio clínico no se podrá visualizar fácilmente, su principal manifestación clínica va a radicar la ubicación y la fisiopatología que se halle el hongo en el cuerpo humano al igual que la respuesta que tenga el individuo ante el agente etiológico de la *Cryptococcus Neoformans*. Sin embargo, la coloración del Ácido Peryódico de Schiff aplicado en el tejido sospechoso establecerá el diagnóstico microbiológico y el pronóstico clínico del paciente.

El ácido peryódico de Schiff permitirá observar ampliamente la reacción de los glucógenos, polisacáridos y mucopolisacáridos, típicos en tejido conjuntivo, moco, glicocálix y lámina basal, de igual forma por su reacción química facilita identificar la presencia de un grupo funcional presente en los carbohidratos y así arrojará si tiene otra patología aparte de la Criptococosis. El reservorio principal del *Cryptococcus neoformans* son los suelos contaminados con heces de aves, siendo las vías respiratorias el medio principal de ingreso por medio de la inhalación, para finalmente alojarse en los pulmones.

La infección por criptococosis es una micosis endémica en pacientes con algún grado de inmunosupresión y su incidencia y prevalencia aumentan en concordancia con el grado de inmunosupresión. Así mismo al momento del diagnóstico de enfermedad pulmonar puede notarse la naturaleza sistémica de la infección, explicable por diseminación hematogena. No existen datos clínicos o del examen físico que permitan sospechar la enfermedad, a excepción del aislamiento del hongo en otros órganos concomitante con síntomas respiratorios. A pesar del tratamiento, si la infección se encuentra diseminada ocurre una alta mortalidad.

Las consecuencias de una infección por criptococosis *Neoformans* dependen del estado de salud de la persona infectada, la forma de la enfermedad y el tratamiento. Aparentemente, las personas sanas se encuentran expuestas con frecuencia sin enfermarse. Esta micosis hoy en día ataca más a las personas en contacto con aves de crianza (palomas). El hongo de *Cryptococcus neoformans* afecta a las persona inmunodeprimida y a las personas con el virus de VIH. La tinción de PAS es de gran utilidad a condición de que el diagnóstico

microbiológico clínico esté bien orientado, es una de las técnicas más comúnmente utilizadas en dermatopatología.

Esta técnica se usa en la tinción de estructuras que contengan una alta proporción de macromoléculas de hidratos de carbono, glicógeno, glicoproteína, proteoglicano, típicas por ejemplo del tejido conjuntivo, moco, glicocáliz y lámina basal.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda a los médicos tratante la importancia que posee el procesamiento de los tejidos en el área de anatomía patológica para el diagnóstico de la criptococosis así se proliferará el conocimiento clínico y ayudará al paciente a un diagnóstico oportuno.

Se sugiere al médico tratante y del médico anatomopatólogo que se familiarice más con la técnica del Ácido Peryodico de Schiff y que no lo acredite solo para demostración de glucógenos en el tejido lo amplíe en otros contextos clínicos y no lo estereotipe, además que observe la importancia del diagnóstico de esta patología y así se pueda establecer un diagnóstico oportuno.

Se deberán tomar medidas de precaución, tales como usar mascarillas anti polvo, cuando se limpien edificios viejos/graneros, ya que estas áreas pueden verse contaminadas con excrementos de pájaro. Siempre lave sus manos cuidadosamente luego de limpiar las áreas mencionadas anteriormente.

Evitar alimentar a las palomas.

Disminuir la cantidad de agua, alimento o refugio para las palomas.

Los lugares que acumulan las heces de las aves deben ser limpiados con agua y cloro.

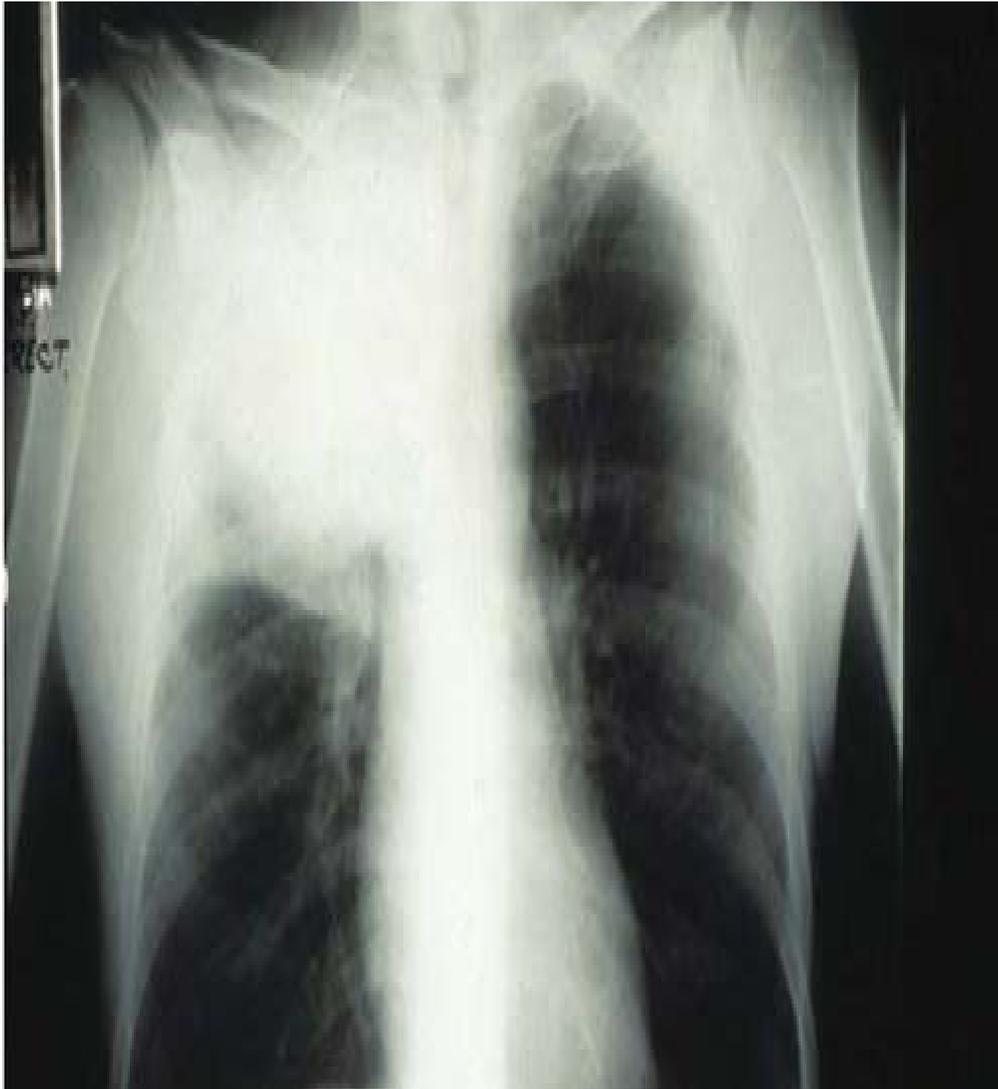
Inclinación de las superficies, para evitar el aterrizaje de las palomas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1) Moreno X. *Epidemiología de las enfermedades fúngicas invasoras. SVBE [En línea].2014 [Citado 25 de septiembre de 2018]; 17(2): 75-80. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/305852770\\_EPIDEMIOLOGIA\\_DE\\_LA\\_S\\_ENFERMEDADES\\_FUNGICAS\\_INVASORAS](https://www.researchgate.net/publication/305852770_EPIDEMIOLOGIA_DE_LA_S_ENFERMEDADES_FUNGICAS_INVASORAS)*
- 2) Díaz V. *TEJIDO EPITELIAL [Internet] 2012. Disponible en: <https://epitelial.com/content/1/1/es/%C2%BFque-es-el-tejido-epitelial-epitelio.html>*
- 3) Lujan, K *LIMITANTES DIAGNOSTICAS DE INFECCIONES OPORTUNISTAS EN PACIENTES CON VIH. Rev. Cient. Esc. Univ. Cienc. Salud. 2017; 4(2): 63-67. Disponible <http://www.bvs.hn/RCEUCS/pdf/RCEUCS4-2-2017-11.pdf>*
- 4) Torres, A Caviedes, M. Abed, M. Eliceche, M. Kowalczyk, A. Galimberti, R *Distintas formas de afección cutánea por Cryptococcus spp. en pacientes trasplantados ARTICULO ORIGINAL DermatologíaCMQ2017;15(2):71-76 febrero, 2017. Disponible: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2017/dcm172b.pdf>*
- 5) Salazar, Y –Carrillo. Soto, F- Febres. Perez, G-Lazo. Yatacvo, r. Sumire, J. *Criptococosis en paciente trasplantada renal. Lima Perú 2018. Disponible <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v35n2/a09v35n2.pdf>*
- 6) Sánchez D; Bernal L; Yomary M; et al. *Infección fúngica invasiva en pacientes inmunosuprimidos atendidos en un hospital de tercer nivel realizado en Colombia. <http://www.scielo.org.co/pdf/rmri/v19n2/v19n2a08.pdf>.*
- 7) Maquera J; Yerson D; Larico G. *Criptococosis pulmonar enmascarada por tuberculosis miliar, con infección pulmonar e implicaciones diagnósticas y terapéuticas en pacientes con VIH . [Internet].2013.[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1728-59172016000400009](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172016000400009)*

- 8) Megías M; Pilar M; Pombal M. *Técnicas histológicas. Colorante Reactivo De Schiff.* [Fecha de última actualización 28 de enero de 2018]. [Internet]. <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/protocolos/s-colorante-schif.php>
- 9) Díaz V. *MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE ANATOMÍA PATOLÓGICA.* Diseño Editor and Publisher [internet]. [Última actualización Enero 2018 Citado 13 de Mayo 2018] Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/132622731/Manual-de-Procedimientos-en-Anatomia-Patologica-Dr-n-Vivar-d>
- 10) A. Villena, P. López. *Atlas interactivo on-line de Histología y Organografía Microscópica comparada* [internet]. <http://www.ehistologia.unileon.es/Inicio/home/Inicio1024.html>
- 11) Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Disponible en: [http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/cryptococcosis\\_t.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/cryptococcosis_t.htm)
- 12) *Medical Microbiology* Disponible en: <http://www.gsbs.utmb.edu/microbook>

## ANEXOS

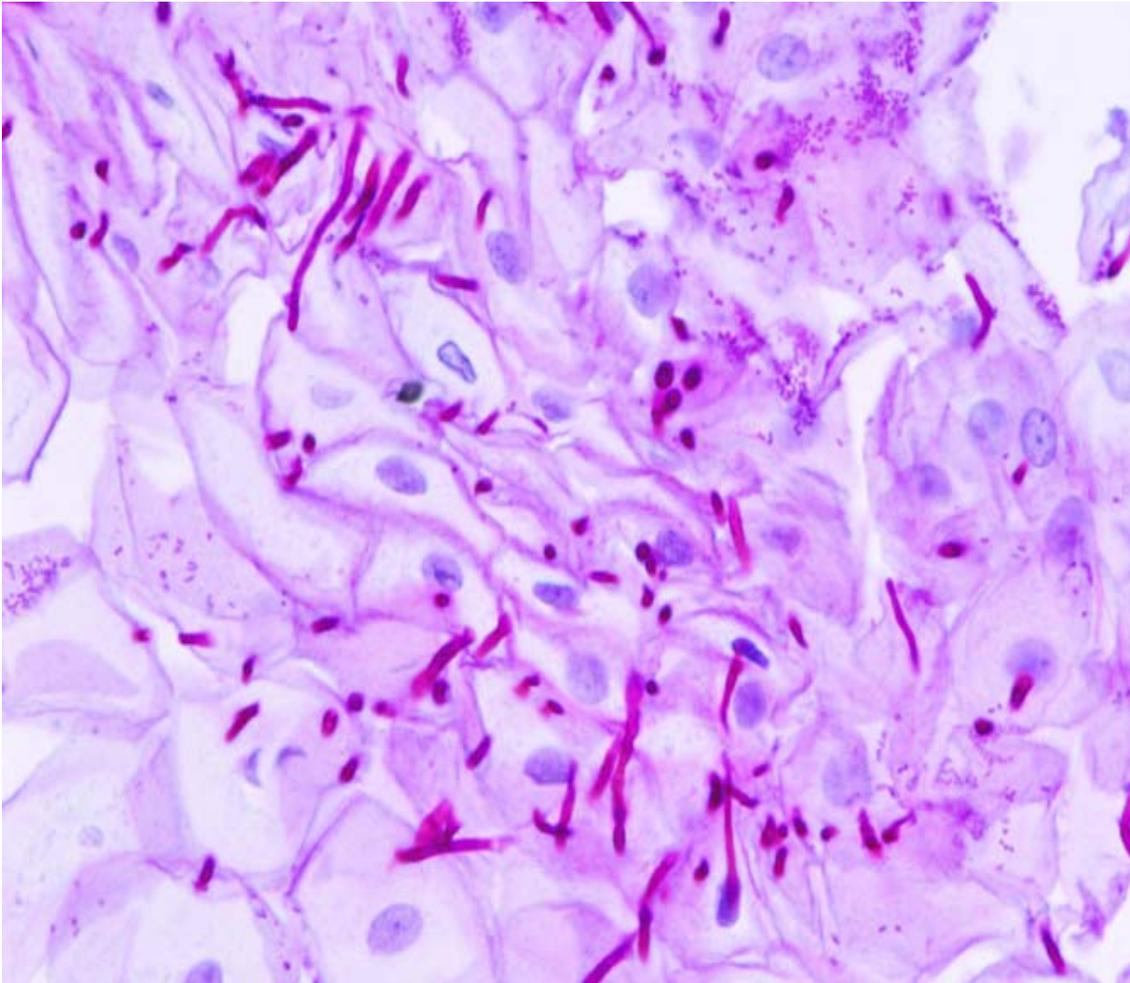


***Figura 1. CRIPTOCOCOSIS PULMONAR Fuente:***  
***[https://www.msmanuals.com/es-ve/professional/enfermedades-](https://www.msmanuals.com/es-ve/professional/enfermedades-infecciosas/hongos/criptococosis)***  
***[infecciosas/hongos/criptococosis](https://www.msmanuals.com/es-ve/professional/enfermedades-infecciosas/hongos/criptococosis)***



**Figura2. CRIPTOCOCOSIS PULMONAR ENMASCARADA.**

***Fuente: Maquera et al. 2016<sup>2</sup>. Criptococosis pulmonar enmascara por tuberculosis miliar. Acta Médica Peruana. 2017; 33(4):313-316.***



**Figura 3. TÉCNICA DE SCHIFF. Fuente:**

**[https://es.wikipedia.org/wiki/T%C3%A9cnica\\_de\\_Schiff#/media/Archivo:Esophageal\\_candidiasis\\_\(2\)\\_PAS\\_stain.jpg](https://es.wikipedia.org/wiki/T%C3%A9cnica_de_Schiff#/media/Archivo:Esophageal_candidiasis_(2)_PAS_stain.jpg)**



***Figura 4. CRIPTOCOCOSIS EXTENDIDA POR LA PIEL Fuente:***

<https://www.msmanuals.com/es/hogar/infecciones/infecciones-por-hongos-infecciones-f%C3%B3ngos-micosis/cryptococosis>



**Figura 5. Hongo Cryptococcus gattii.** Este hongo unicelular se encuentra en los suelos. Es una de las causas de la enfermedad la criptococosis, lo cual puede causar lesiones en los pulmones y el sistema nervioso central (cerebro y médula espinal).**Fuente:** <https://www.alamy.es/foto-el-hongo-cryptococcus-gattii-equipo-de-ilustracion-este-hongo-unicelular-se-encuentra-en-los-suelos-es-una-de-las-causas-de-la-enfermedad-la-criptococosis-lo-cual-puede-causar-lesiones-en-los-pulmones-y-el-sistema-nervioso-central-cerebro-y-medula-espinal-167131933.html>