

## COMUNICACIÓN BREVE

PARQUE ZOOLOGICO NACIONAL  
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

### *Cryptococcus gattii* aislado de un guepardo (*Acinonyx jubatus*) del Parque Zoológico Nacional de Cuba

Jorge Luis Polo Leal,<sup>1</sup> Carlos Manuel Fernández Andreu,<sup>2</sup> Gerardo Martínez Machín,<sup>3</sup> María Teresa Illnait Zaragoza<sup>3</sup> y Mayda Rosa Perurena Lancha<sup>4</sup>

#### RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** la criptococosis, micosis sistémica causada por especies del género *Cryptococcus*, ha elevado considerablemente su incidencia en los últimos años, asociada sobre todo a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. También ha sido descrita en animales, aunque con baja frecuencia. **MÉTODOS:** se presentó el caso de una hembra de guepardo (*Acinonyx jubatus*) mantenida en cautiverio en el Parque Zoológico Nacional, en La Habana. El animal, procedente de Sudáfrica, comenzó con súbita pérdida de peso, astenia, anorexia y dificultad respiratoria con abundante secreción nasal. **RESULTADOS:** mediante exámenes micológicos de esas secreciones se demostró la presencia de *Cryptococcus gattii* serotipo B. Por el origen del animal y su permanencia en cautiverio, se estima que la infección se mantuvo latente por un período no menor de 16 meses. **CONCLUSIONES:** en Cuba, hasta el momento, todos los aislamientos clínicos de *Cryptococcus* corresponden a *C. neoformans* var. *grubii*, por lo que se estima que la infección fue adquirida en el país de origen del animal. Este representa el primer aislamiento de *C. gattii* en Cuba a partir de un animal importado de Sudáfrica, donde este hongo es endémico.

**Palabras clave:** *Cryptococcus gattii*, *Acinonyx jubatus*, guepardo, Criptococosis, Cuba.

#### INTRODUCCIÓN

La criptococosis es la micosis sistémica causada por especies del género *Cryptococcus*, entre las cuales las de mayor relevancia clínica son *C. neoformans* y *C. gattii*, incluidas actualmente dentro de un complejo de especies muy relacionadas entre sí, pero también con suficientes diferencias como para ser consideradas especies distintas.<sup>1</sup>

Esta micosis ha elevado considerablemente su incidencia en los últimos años, asociada principalmente a la infección causada por el virus de la inmunodeficiencia humana.<sup>2</sup> También ha sido descrita en distintas especies animales, tanto domésticos como de la fauna silvestre, aunque con baja frecuencia.<sup>3-5</sup> En Cuba, hasta el momento, todos los aislamientos clínicos de *Cryptococcus* en humanos corresponden a *C. neoformans* var. *grubii* (antes *C. neoformans* var. *neoformans* serotipo A);

<sup>1</sup> Máster en Ciencias. Parque Zoológico Nacional. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Doctor en Ciencias. Investigador Titular. Laboratorio de Micología, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK). Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>3</sup> Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Auxiliar. Laboratorio de Micología, IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>4</sup> Licenciada en Microbiología. Máster en Bacteriología y Micología. Investigadora Auxiliar. Laboratorio de Micología, IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

por el contrario, *C. gattii* nunca ha sido aislado en el país.<sup>6</sup> En este trabajo se presenta el primer aislamiento y caracterización de *C. gattii* en Cuba, a partir de productos patológicos de un ejemplar hembra de guepardo (*Acinonyx jubatus*) que llegó al país procedente de Sudáfrica con aproximadamente 12 meses de edad, el cual había sido ubicado en exhibición en el área de carnívoros del Parque Zoológico Nacional (PZN).

Después de permanecer 16 meses en cautiverio, el ejemplar comenzó a presentar súbita pérdida de peso, astenia, anorexia y dificultad respiratoria con abundante secreción nasal, por lo que fue trasladado a la clínica veterinaria del centro para su mejor observación y tratamiento; no se constataron manifestaciones en otros órganos o sistemas. A partir de las secreciones nasales se tomaron muestras con hisopo estéril y se realizó un frotis con coloración de Gram para su observación microscópica. Los hisopados fueron sembrados en agar glucosa de Sabouraud con cloranfenicol y agar sangre e incubados a 28 °C y a 37 °C, respectivamente hasta la aparición de evidencia macroscópica de crecimiento microbiano.

A las 48 h de incubación se observó crecimiento levaduriforme en ambos medios de cultivo. La cepa aislada fue remitida al Laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" donde se confirmó la identificación del género *Cryptococcus* mediante la observación de cápsula en tinta china, la producción de ureasa, la ausencia de filamentación en agar harina de maíz, la asimilación de inositol y la producción de pigmento en agar semillas de girasol (*Helianthus annuus*). Mediante la utilización del medio CGB (L-canavanina-glicina-azul de bromotimol) y la aglutinación en lámina (*Crypto Check*; *Iatron Laboratories*, Tokio, Japón), la cepa fue identificada como *C. gattii* serotipo B.<sup>1</sup>

Aunque *C. neoformans* y *C. gattii* tienen características culturales similares (aspecto mucoso y color blanco a crema cuando se cultivan en agar glucosa de Sabouraud), presentan varias propiedades fisiológicas que permiten diferenciarlas: *C. gattii*, a diferencia de *C. neoformans*, utiliza como fuente de nitrógeno D-prolina, D-triptófano, L-ácido málico y creatinina, mientras que la glicina es utilizada como fuente de carbono y nitrógeno; es resistente a la cicloheximida (1,6 µg/mL) y a la

L-canavanina. Estas diferencias en el comportamiento bioquímico de esas 2 especies han permitido el diseño de diversos medios de cultivo que logran su identificación. El medio CGB continúa siendo el más utilizado en la actualidad para la diferenciación de estas 2 especies a partir de aislamientos clínicos y se basa en la resistencia a la L-canavanina y la utilización de la glicina como fuente de carbono y nitrógeno por parte de *C. gattii* con la consiguiente liberación de amonio y alcalinización del medio de cultivo, que produce un cambio de coloración de amarillo a azul intenso.<sup>3,7</sup>

Mientras *C. neoformans* afecta fundamentalmente a individuos inmunocomprometidos y ha sido reportado en todas las latitudes, *C. gattii* infecta sobre todo a individuos inmunocompetentes y ha sido aislado con mayor frecuencia en zonas tropicales y subtropicales. Sin embargo, ha sido encontrado en Europa, en áreas con clima templado o mediterráneo y en zonas templadas del continente americano. Esta especie también ha sido responsable de un importante brote ocurrido en Vancouver, el cual se propagó más tarde a zonas continentales de Canadá y EE. UU., y que afectó no solo a la población residente en la zona, sino también, al menos, a 5 especies animales, tanto domésticos como de vida libre.<sup>8,9</sup> En los últimos años se le ha considerado una especie emergente a nivel mundial.<sup>10</sup> Su prevalencia es elevada en determinadas zonas de Australia, Brasil, México, Tailandia, África Central y sur de California, entre otros.<sup>3</sup> Sudáfrica, país de origen del guepardo objeto de este trabajo, se considera también una zona endémica de la infección por este hongo.<sup>11</sup>

Entre las especies animales a partir de las cuales se ha aislado *C. gattii* se encuentran gatos, perros, caballos, ovejas, cabras, zorros, hurones, primates, delfines, koalas, entre otras;<sup>3-5,8</sup> sin embargo, los más afectados son los felinos, en los cuales la enfermedad suele presentarse con síntomas respiratorios similares a los descritos en el ejemplar de guepardo estudiado. Los gatos son especialmente susceptibles a la infección por ambas especies de *Cryptococcus*, lo que ha permitido una mejor caracterización de la enfermedad en estos animales y en general en los felinos.<sup>12</sup>

En estos mamíferos la infección es adquirida por vía inhalatoria, que afecta a las vías respiratorias altas, principalmente la cavidad nasal. El

cuadro más frecuente es la rinitis, que puede llegar a ser crónica con abundante secreción seguida de deformación de la cavidad nasal en 70 % de los casos, por la presencia de granulomas en los estadios avanzados de la enfermedad. También puede verse comprometida la nasofaringe, con producción de estertores y disnea. Suele presentarse aumento del tamaño de los ganglios mandibulares y diseminación al tejido subcutáneo paranasal. En otros casos, la infección alcanza al sistema nervioso central (SNC) con manifestaciones neurológicas como depresión, ataxia e incoordinación, ceguera periférica y retinitis.<sup>12,13</sup>

Entre los grandes felinos, los guepardos han sido una de las especies más afectadas, con cuadros clínicos muy similares a los descritos en los gatos. *Berry* y otros (1997) realizaron el diagnóstico (microbiológico, radiológico e histopatológico) de criptococoma pulmonar y meningoencefalomielitis en un ejemplar de *Acinonyx jubatus* en cautiverio con ataxia subaguda de los 4 miembros.<sup>14</sup> Otros 2 casos de criptococosis del SNC fueron documentados por *Bolton* y otros en individuos en cautiverio de esta misma especie, los cuales, además de las manifestaciones neurológicas, presentaron daño en el tracto respiratorio;<sup>15</sup> más recientemente, *Millward* y *Williams* demostraron la presencia de criptococosis en un guepardo de vida libre con daño respiratorio y neurológico.<sup>4</sup> En los 3 reportes mencionados se trataba de ejemplares de *Acinonyx jubatus* de Sudáfrica y el agente causal fue *C. gattii*, lo que coincide con el presente caso.

Algunos autores han sugerido que la infección por el virus de la inmunodeficiencia felina pudiera ser un factor predisponente para la criptococosis, sin embargo, en ninguno de los animales sudafricanos ha sido demostrada la presencia de este virus ni el virus de la leucemia felina; parece más aceptable el papel que pueda desempeñar en la susceptibilidad de estos mamíferos a desarrollar la enfermedad por *C. gattii*, el estrés del cautiverio y a la poca variabilidad genética existente entre las diferentes poblaciones de guepardos.<sup>4</sup>

A pesar de varios intentos realizados, *C. gattii* nunca ha sido aislado de fuentes ambientales en Cuba (datos no publicados), por lo que se puede asumir que el animal objeto de este estudio se infectó en su país de origen. De ser así, pudiera

también asumirse que el período de incubación fue superior a 16 meses. El estrés provocado por el traslado y el cautiverio en nuestras condiciones pudieron haber activado la infección latente después de varios meses o años. Aunque se ha descrito la infección inactiva o latente por un período de hasta 110 meses,<sup>16</sup> *McDougall* y *Fyfe* han estimado para la infección por *C. gattii* en humanos, un período de incubación entre 6 y 8 meses, partiendo de los estudios realizados en el brote ocurrido en Vancouver.<sup>17</sup>

Los guepardos o *cheetahs* (*Acinonyx jubatus*) pertenecen a los llamados grandes felinos (orden Carnívora; familia Felidae), distribuidos principalmente en las extensas y abiertas sabanas del África subsahariana y parte de Asia, donde puede cazar sus presas (generalmente ungulados de mediano tamaño);<sup>18</sup> se encuentra actualmente entre las especies que enfrentan un alto riesgo de extinción en estado silvestre, por lo que se ha clasificado en la categoría de *vulnerable* por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza.<sup>19</sup>

En reportes previos ha aparecido información parcial e incompleta relacionada con este aislamiento,<sup>20-22</sup> lo que pudiera haber generado una confusión acerca de la existencia de *C. gattii* en Cuba; sin embargo, este es el primer trabajo en que se ofrece la información más completa disponible sobre este ejemplar de *Acinonyx jubatus*, procedente de Sudáfrica, fallecido en el Parque Zoológico Nacional con criptococosis causada por esta especie.

### ***Cryptococcus gattii* isolated from a cheetah (*Acinonyx jubatus*) in the National Zoo of Cuba**

#### **ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** Cryptococcosis – systemic mycosis caused by *Cryptococcus* species- has considerably raised its incidence in the last years, mainly associated with the human immunodeficiency virus infection. It has also been described in animals, but rare cases. **METHODS:** a case of a female cheetah (*Acinonyx jubatus*) kept in the National Zoo of Havana was presented. The animal came from South Africa. She began losing weight, and suffering asthenia, anorexia and breathing problems with abundant nasal secretion. **RESULTS:** mycological testing of these secretions disclosed the presence of serotype B *Cryptococcus gattii*. Because of the origin and captive condition of the animal, it was believed that the infection had been latent for 16 months at least. **CONCLUSIONS:** up to the present, in Cuba, all clinical *Cryptococcus* isolates were *C. neoformans* var. *grubii*,

so it is considered that the infection was caught in the country of origin of the female cheetah. This is the first *C. gattii* isolate in Cuba from an animal coming from South Africa where this fungus is endemic.

**Key words:** *Cryptococcus gattii*, *Acinonyx jubatus*, cheetah, cryptococcosis, Cuba.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bovers M, Hagen F, Boekhout T. Diversity of the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* complex. *Rev Iberoam Micol.* 2008;25:S4-S12.
2. Warnock DW. Fungal diseases: an evolving public health challenge. *Med Mycol.* 2006;44:697-705.
3. Sorrell TC. *Cryptococcus neoformans* variety *gattii*. *Med Mycol.* 2001;39:155-68.
4. Millward IR, Williams MC. *Cryptococcus neoformans* granuloma in the lung and spinal cord of a free-ranging cheetah (*Acinonyx jubatus*). A clinical report and literature review. *J S Afr Vet Ass.* 2005;76:228-32.
5. McGill S, Malik R, Saul N, Beetson S, Secombe C, Robertson I, Irwin P. Cryptococcosis in domestic animals in Western Australia: a retrospective study from 1995-2006. *Med Mycol.* 2009;47:625-39.
6. Fernández Andreu CM, Martínez Machín G, Illnait Zaragoza MT, Perurena Lancha MR, González Miranda M. Identificación de *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* en aislamientos clínicos cubanos. *Rev Cubana Med Trop.* 1998;50:167-9.
7. Klein KR, Hall L, Deml SM, Rysavy JM, Wohlfiel SL, Wengenack NL. Identification of *Cryptococcus gattii* by use of L-canavanine glycine bromothymol blue medium and DNA sequencing. *J Clin Microbiol.* 2009;47:3669-72.
8. Stephen C, Lester S, Black W, Fyfe M, Raverty S. Multispecies outbreak of cryptococcosis on southern Vancouver Island, British Columbia. *Can Vet J.* 2002;43:792-4.
9. Galanis E, MacDougall L. Epidemiology of *Cryptococcus gattii*, British Columbia, Canada, 1999-2007. *Emer Infect Dis.* 2010;16:251-7.
10. Springer DJ, Chaturvedi V. Projecting global occurrence of *Cryptococcus gattii*. *Emer Infect Dis.* 2010;16:14-20.
11. Morgan J, McCarthy KM, Gould S, Fan K, Arthington-Skaggs B, Iqbal N, et al. *Cryptococcus gattii* infection: characteristics and epidemiology of cases identified in a South African province with high HIV seroprevalence, 2002-2004. *Clin Infect Dis.* 2006;43:1077-80.
12. Castellá G, Abarca ML, Cabañes FJ. Criptococosis y animales de compañía. *Rev Iberoam Micol.* 2008;25:S19-S24.
13. Malik R, Wigney DI, Muir DB, Gregory DJ, Love DN. Cryptococcosis in cats: clinical and mycological assessment of 29 cases and evolution of treatment using orally administered fluconazole. *J Med Vet Mycol.* 1992;30:133-44.
14. Berry WL, Jardine JE, Espie IW. Pulmonary cryptococcoma and cryptococcal meningoencephalomyelitis in a king cheetah (*Acinonyx jubatus*). *J Zoo Wildl Med.* 1997;28:485-90.
15. Bolton LA, Lobetti RG, Evezard DN, Picard JA, Nesbit JW, Van Heerden J, et al. Cryptococcosis in captive cheetah (*Acinonyx jubatus*): two cases. *J S Afr Vet Ass.* 1999;70:35-9.
16. Garcia-Hermoso D, Janbon G, Dromer F. Epidemiological evidence for dormant *Cryptococcus neoformans* infection. *J Clin Microbiol.* 1999;37 (10): 3204-9.
17. MacDougall L, Fyfe M. Emergence of *Cryptococcus gattii* in a novel environment provides clues to its incubation period. *J Clin Microbiol.* 2006;44:1851-2.
18. *Acinonyx jubatus*. [cited 2010 Mar 27]. Available at: <http://nationalzoo.si.edu/Animals/AfricanSavanna/fact-cheetah.cfm>
19. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN). International Red List of threatened species. Version 2009.2. 2009. [Cited 2009 Nov 23]. Available at: <http://www.iucnredlist.org>
20. Baró T, Torres-Rodríguez JM, Morera Y, Alía C, López O, Méndez R. Serotyping of *Cryptococcus neoformans* isolates from clinical and environmental sources in Spain. *J Clin Microbiol.* 1999;37:1170-2.
21. Torres-Rodríguez JM, Morera Y, Baró T, López O, Alía C, Jiménez T. In vitro susceptibility of *Cryptococcus neoformans* serotypes to GM 237354 derivative of the sordarin class. *Mycoses.* 2002;45:313-6.
22. Torres-Rodríguez JM, Alvarado-Ramírez E, Gutiérrez-Gallego R. Diferencias en la actividad de la enzima ureasa entre *Cryptococcus neoformans* y *Cryptococcus gattii*. *Rev Iberoam Micol.* 2008;25:27-31.

Recibido: 15 de febrero de 2010. Aprobado: 4 de mayo de 2010.  
Dr. Carlos M. Fernández Andreu. Laboratorio de Micología, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. AP 601, CP 11300. Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: cfandreu@ipk.sld.cu