

ESTUDIOS SOBRE EL *CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS* (Sanfelice). II - ASPECTO MICRO-
MORFOLÓGICO Y CITOLOGÍA

Por PABLO NEGRONI y C. BRIZ DE NEGRONI

MÉTODOS — Estas observaciones fueron efectuadas en los cultivos sobre dos medios sólidos y un medio líquido: uno el medio mineral de Lodder utilizado para el auxanograma de la fuente nitrogenada adicionado de sulfato de amonio: fosfato monopotásico 0,1 %; sulfato de magnesio 0,05 %; sulfato de amonio, 0,1 % y glucosa 1 % más 20 microgramos por ml. de clorhidrato de tiamina que, según Mayer y Aschner (¹), sería un elemento necesario para obtener su crecimiento en los medios minerales; el otro medio sólido utilizado fué el agar miel de Sabouraud y, el medio líquido: caldo glucosado adicionado de un fragmento de cerebro fresco de cobayo, extraído asépticamente. Los cultivos fueron examinados durante un período de incubación comprendido entre 24 horas a varios meses.

COMENTARIO E INTERPRETACIÓN DEL MECANISMO DE
BROTACIÓN

El *Cryptococcus neoformans* tiene un proceso de multiplicación vegetativa que no hemos visto en ningún otro hongo levaduriforme y que aparece nítidamente en el medio mineral mencionado.

El brote es emitido a través de un cuello corto y es desplazado por otros que se forman sucesivamente. Es probable que la cápsula mucosa que rodea a los elementos adultos esté, aún, incompletamente formada y sea esa la razón por la cual sólo se vean dos o tres elementos en el orificio del cuello. Todo hace pensar que la célula madura emite brotes durante cierto tiempo a nivel de un cuello provisto de un ostiolo que una vez formado no se cierra sino que persiste como un punto de crecimiento abierto "open

Presentado para publicar el 13 de junio de 1950.

growing point" de Mason (³). Los elementos emitidos serían, pues, "brotes miristémicos" puesto que su formación no agota la capacidad de originar otros nuevos a ese mismo nivel.

Cuando la célula va envejeciendo el "punto meristémico" aparece rodeado de un collarete y como la capacidad de formar nuevos brotes probablemente se retarda mucho, otros tantos collaretes hacen procidencia por dentro del primero (fig. 1 Nº 22). Hay células con dos o tres puntos meristémicos.

Este mecanismo de formación recuerda al de las conidias en las fialides tan admirablemente bien descrito por Pethybridge y Lafferty en 1917 en el *Fusarium coeruleum* (citado por Mason) y luego por Duvernoy y Maire (1920) y por Arnaud y Barthelet (1936) en otras especies de hongos.

Ciertas células adultas parecen emitir un contenido celular amorfo y, nos preguntamos, si no serían formas microthallicas infectantes que explicarían su migración desde la puerta de entrada hasta el sistema nervioso central.

RESUMEN

El *Cryptococcus neoformans* presenta ciertos caracteres microscópicos que afirman su ubicación en un género especial: *Cryptococcus*, diferente de *Torulopsis*. En los cultivos en un medio mineral con tiamina presenta las siguientes particularidades: 1) formación de células hijas por un proceso intermedio entre la brotación y producción de conidias en los "phialidados". Los brotes nacen a nivel de un "punto de crecimiento abierto" o "punto meristémico" provisto de un cuello corto y de un collarete. En las células jóvenes los brotes se conglomeran en el orificio del cuello; en las células viejas (cultivos de 5 y 16 días) la energía reproductiva disminuye, la membrana adquiere mayor espesor y cada emisión de brotes deja un nuevo collarete que hace procidencia por dentro del primero. Estos brotes no son "conidia vera" puesto que no detienen su vida vegetativa. Hay células con dos o tres "puntos meristémicos" y otras que emiten un contenido celular amorfo (formas microthallicas infectantes?). 2) Presenta un fenómeno de muda. La célula regenerada abandona su envoltura y emprende un nuevo ciclo evolutivo.

No hemos podido observar la formación de endosporos ni confirmar el ciclo evolutivo descrito por Todd y Herrmann.

SUMMARY

Cryptococcus neoformans has the following microscopical characteristics which appear specially on a mineral medium with thiamin: 1) budding takes place at an "open growing-point" or "meristematic point" provided with a short neck and a collar. Daughter-cells are then "meristem-buds" but not "conidia vera" because they continue their vegetative development. Adult-cells of 5 days seem to delay their reproductive energy and each escaping bud leaves a new collar inside the former one. Some cells seem to discharge amorphous cell-content (microthallid-forms?).

2) Resting-cells of *C. neoformans* present the moulting phenomenon. Regenerated cells slip from their membranes which appear attached at one end as empty sheaths. We could not observe endospore formation.

BIBLIOGRAFIA

1. MAYER, J. AND ASCHNER, M. — *J. Bact.* 1947, 53, 283.
2. NICKERSON, W. J. AND THIMANN, K. V. — *Amr. J. Bot.*, 1941, 28, 617.
3. MASON, E. W. — *Ann. Acc. Fungi Imp. Myc. Inst.*, List II, 193, 6.
4. DUVERNOY, A. ET MAIRE, R. *Bull. Soc. Myc. France*, 1920, 36, 86.
5. ARNAUD, G. ET BARTHELET, J. — *Bull. Soc. Myc. France*, 1936, 52, 61.
6. GUÉGUEN, F. — *Bull. Soc. Myc. France*, 1898, 14, 201; 1899, 15, 15.
7. TODD, R. L. AND HERRMANN, W. W. — *J. Bact.*, 1936, 32, 89.
8. REDAELLI, P. E CIFERRI, R. — *Le granulomatosi fungine dell'uomo nelle regioni tropicali e subtropicali*. S. E. S., Firenze, 1942.

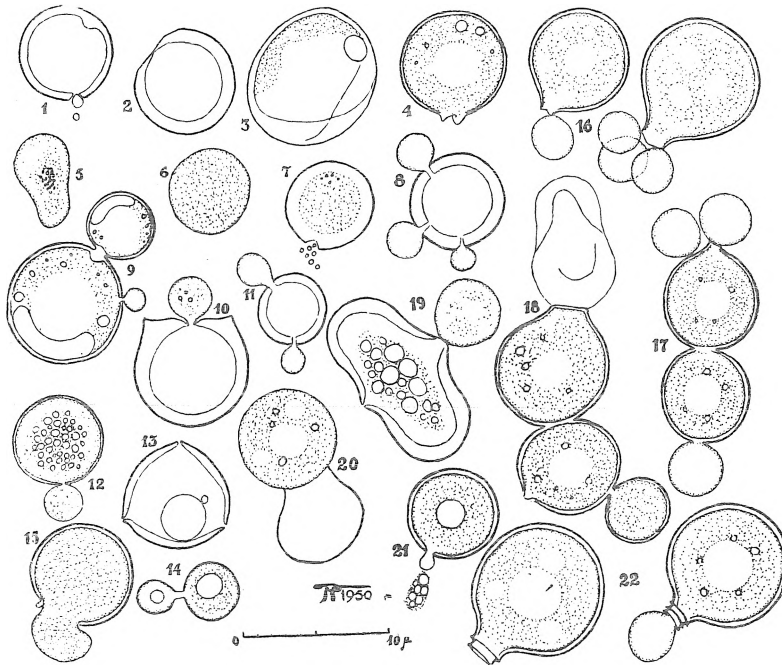


Fig. 1. — Números 1 a 14: diversos aspectos micromorfológicos de un cultivo en agar miel de 5 meses y medio. 15: célula de un cultivo en caldo con cerebro presentando el fenómeno inicial de la muda. 18 y 20: otros aspectos del mismo fenómeno. 16 a 18: células de un cultivo en el medio mineral con tiamina de 5 días de incubación. 22: células del mismo medio al cabo de 16 días. 19 a 21: células de un cultivo de 1 mes de incubación a 28° C en agar miel.