

# Diagnóstico micológico

## en pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana

Mycologic diagnosis in patients infected by VIH disease

Jerez Puebla LE, Fernández CM, Illnait MT, Perurena MR, Rodríguez I y Martínez G.

Laboratorio Nacional de Referencia de Micología

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Autopista Novia del Mediodía, km 6 ½. La Habana, Cuba

Autor para correspondencia: Luis E. Jerez (email: ljerezp@ipk.sld.cu)

Recibido: 18/06/2010

Aceptado: 19/09/2010

### Resumen

Con el descubrimiento del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en 1981, la frecuencia de las infecciones oportunistas en pacientes inmunodeprimidos, especialmente los infectados por el VIH, ha experimentado un notable incremento. Dentro de éstas se encuentran las de etiología fúngica, las cuales presentan un alto grado de mortalidad si no son diagnosticadas y tratadas a tiempo. En nuestro país con la instauración de la terapia antirretroviral altamente efectiva a partir del año 2001, se ha notado una reducción significativa en la morbilidad y la mortalidad por infecciones oportunistas, en particular por las micosis, muy comunes en este tipo de pacientes. En el presente estudio se realizó el diagnóstico micológico procedente de pacientes infectados por el VIH/sida, durante el período comprendido entre enero 2005 y diciembre de 2009. De un total de 1173 muestras biológicas procesadas, solamente resultaron positivas 324 para un 27,6% de positividad. La candidiasis orofaríngea y la meningoencefalitis criptocócica fueron las infecciones diagnosticadas con una mayor incidencia. En las muestras analizadas la concordancia en la positividad entre el examen directo y el examen por cultivo micológico fue de un 56,2%, lo que confirma la importancia del empleo del examen directo en la visualización de estructuras fúngicas a partir de muestras clínicas.

**Palabras claves:** diagnóstico micológico, micosis oportunistas, VIH/sida,

### Abstract

With the discovery of the human immunodeficiency virus (HIV) in 1981, the frequency of the opportunistic infections in the immunosuppressed patients, especially the infected ones by the HIV, it has experienced a notable increase. Inside these there are those of micotic aetiology, which present a high grade of mortality, if they are not diagnosed and treated on time. In our country with the instauration of the highly effective antirretroviral therapy since the year 2001, a significant reduction has been seen in the morbidity and the mortality of the opportunistic infections, especially those caused by fungus, in this type of patients. In the present study the positivity was analyzed in the mycological diagnosis realized by conventional methods of the different clinical samples received in the National Laboratory of Reference of Mycology, from patients infected with HIV/aids during the period between January 2005 and December 2009. Of a whole of 1173 biological samples processed only 324 turned out positive, for 27,6 % of positivity, being the oropharyngeal candidiasis and the cryptococcal meningoencephalitis, those of major incidence observed. In the clinical samples analyzed, a concordance of 56,2 % was obtained in the positivity of the samples studied by means of direct examination and mycological cultures, which confirms the importance of direct preparations of clinical samples for the visualization of fungal elements from clinical samples.

**Keywords:** mycological diagnosis, opportunistic mycosis, HIV/aids

### Introducción

En las últimas décadas el incremento de las micosis en la Salud Pública mundial ha tenido un aumento significativo<sup>1</sup>. Esto se ha hecho dramáticamente evidente a partir de la aparición y extensión de la pandemia provocada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)<sup>1</sup>. Sin embargo, ya antes de la aparición de este mortal flagelo de nuestro tiempo,

las micosis habían aumentado su frecuencia y distribución mundial, asociadas a pacientes con algún tipo de deterioro inmunológico, o sea: tratamientos médicos prolongados (antibióticos, corticoides, pacientes sometidos a quimioterapia y radiaciones), procedimientos quirúrgicos agresivos o a enfermedades que debilitan la barrera inmunológica<sup>2,3</sup>.

Su incremento relativo se ha visto también influenciado por las medidas de control que, de manera efectiva, han permitido la erradicación de algunas enfermedades virales y bacterianas (campañas masivas de vacunación, nuevos antibióticos) mientras todavía no se dispone hasta el momento de ninguna vacuna para la prevención de las micosis en el hombre, aunque sí han aparecido en el mercado prometedores antimicóticos de amplio espectro y baja toxicidad<sup>4</sup>. La introducción generalizada de la terapia antirretroviral altamente efectiva (TARVAE) y la consiguiente mejoría inmunológica ha originado un aumento evidente de la supervivencia y una disminución de la progresión a sida<sup>5,6</sup>. Esto ha tenido como consecuencias: una disminución de la incidencia global de la mayoría de las infecciones oportunistas tanto como eventos definitorios de sida como de complicaciones tras el diagnóstico de este síndrome<sup>6</sup>.

La epidemia del VIH/sida en Cuba tiene la más baja tasa de prevalencia en la región del Caribe<sup>7</sup>. Esto ha sido posible por un esfuerzo mancomunado del gobierno que ha facilitado una total cobertura de los medicamentos a los pacientes afectados y un tratamiento multidisciplinario a los mismos.

El objetivo de este trabajo fue identificar a los tipos de micosis más frecuentes, y a los agentes etiológicos causantes de éstas, en este tipo de pacientes durante el quinquenio 2005-2009.

## Materiales y métodos

En el período de enero 2005-diciembre 2009 en el Laboratorio Nacional de Referencia de Micología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK), se recibieron y procesaron 1173 muestras clínicas, procedentes de pacientes VIH/sida con sospecha de infección micótica. (Ver Tabla No. 1). El procesamiento de las muestras fue llevado a cabo según las técnicas diagnósticas convencionales descritas para cada tipo de muestra biológica, siendo cultivadas en los medios Sabouraud, con y sin antibióticos<sup>8</sup>.

**Tabla No.1. Total de muestras clínicas procesadas procedentes de pacientes VIH/sida con sospecha de infección fúngica**

| MUESTRAS                      | CANTIDAD    |
|-------------------------------|-------------|
| Líquido cefalorraquídeo (LCR) | 551         |
| Espuito                       | 347         |
| Sangre                        | 99          |
| Lavado Broncoalveolar         | 48          |
| Piel, Pelo, Uña               | 34          |
| Biopsia                       | 30          |
| Exudados                      | 27          |
| Orina                         | 15          |
| Líquido pleural               | 13          |
| Líquido ascítico              | 5           |
| Humor vítreo                  | 4           |
| <b>Total de Muestras</b>      | <b>1173</b> |

## Resultados

Del total de 1173 muestras clínicas trabajadas, solamente se obtuvo aislamiento fúngico en 324 de ellas, para un índice de positividad del 27,6%. Como se puede observar en la Tabla No. 2 las muestras de esputo y las de líquido cefalo-

raquídeo fueron las que se recibieron mayoritariamente en nuestro laboratorio.

**Tabla No. 2. Porcentaje de positividad según el tipo de muestra clínicas estudiada**

| TIPO DE MUESTRAS      | Cantidad    | Muestras Clínicas Positivas | % de Positividad |
|-----------------------|-------------|-----------------------------|------------------|
| LCR                   | 551         | 99                          | 18%              |
| Espuito               | 347         | 135                         | 39%              |
| Sangre                | 99          | 3                           | 3%               |
| Lavado Broncoalveolar | 48          | 4                           | 8%               |
| Piel, Pelo, Uña       | 34          | 2                           | 6%               |
| Biopsia               | 30          | 1                           | 3%               |
| Exudados              | 27          | 2                           | 7%               |
| Orina                 | 15          | 1                           | 7%               |
| Líquido pleural       | 13          | 1                           | 8%               |
| Líquido ascítico      | 5           | 0                           | 0%               |
| Humor vítreo          | 4           | 0                           | 0%               |
| <b>Total</b>          | <b>1173</b> | <b>324</b>                  | <b>27,6%</b>     |

De las especies aisladas más frecuentemente estuvieron *Cryptococcus neoformans*, cuyos aislamientos fueron de 99 en LCR, 1 a partir de biopsia, 1 de orina, 1 de líquido pleural y 2 procedentes de lavado broncoalveolar, y *Candida albicans*, aisladas de 93 muestras clínicas, distribuidas en 91 muestras de esputo y 2 de lavado broncoalveolar.

La importancia del examen directo en el diagnóstico micológico sigue siendo invaluable. Su sencillez, rapidez y bajo costo, unido a la alta sensibilidad en determinadas muestras biológicas, como el líquido cefalorraquídeo, la hacen insustituible.

En la Tabla No. 3 se muestra el total de muestras clínicas positivas (324), de estas 182 fueron diagnosticadas tanto por examen directo como por el aislamiento en cultivo (56,2%).

**Tabla No. 3. Relación de los resultados positivos obtenidos en los exámenes directos y cultivos realizados según el tipo de muestra**

| TIPO DE MUESTRAS      | Muestras Clínicas Positivas | Exámenes directos Positivos |
|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| LCR                   | 99                          | 96                          |
| Espuito               | 135                         | 78                          |
| Sangre                | 3                           | -                           |
| Lavado Broncoalveolar | 4                           | 2                           |
| Piel, Pelo, Uña       | 2                           | 2                           |
| Biopsia               | 1                           | 1                           |
| Exudados              | 2                           | 1                           |
| Orina                 | 1                           | 1                           |
| Líquido pleural       | 1                           | 1                           |
| Líquido ascítico      | 0                           | -                           |
| Humor vítreo          | 0                           | -                           |
| <b>Total</b>          | <b>324</b>                  | <b>182</b>                  |

## Discusión

Las primeras manifestaciones que fueron consideradas como marcadoras de sida fueron la aparición de infecciones oportunistas producidas por microorganismos, generalmente considerados no patógenos para el humano, entre las que figuraban las infecciones ocasionadas principalmente por *Pneumocystis jirovecii* (antes *P. carinii*), *Candida albicans*, y *Cryptococcus neoformans*<sup>9</sup>.

En nuestro estudio se evidenció que las micosis más comunes que afectan a las personas infectadas con el VIH/sida son la candidiasis orofaríngea y la meningoencefalitis criptocócica, resultados que concuerdan con lo reportado en la literatura internacional<sup>10-13</sup>.

La candidiasis orofaríngea (COF) causada por levaduras del género *Candida*, principalmente la especie *Candida albicans*, es la infección oportunista más comúnmente diagnosticada en este grupo de riesgo<sup>14</sup>. Aunque esta infección no suele comprometer la vida, la inmunosupresión sostenida desarrollada en estos pacientes facilita la recurrencia, y en dependencia de su deterioro inmunológico puede llegar hasta la diseminación de la infección<sup>7</sup>. Consecuentemente, muchas veces se requiere de la aplicación de intervalos de terapia supresiva a corto y largo plazos los cuales pueden contribuir al desarrollo de cepas resistentes<sup>16</sup>. La COF frecuentemente también es complicada por una candidiasis esofágica, la cual puede limitar el consumo de alimentos, lo que trae como consecuencia una pérdida de peso, afectando por ende la salud general de los pacientes infectados por el VIH<sup>17</sup>. Al menos el 75% de pacientes sida presentan candidiasis esofágica asociada<sup>18</sup> confirmada por material de biopsia e histopatología obtenidas mediante examen endoscópico<sup>17</sup>.

La infección por el VIH/sida continúa siendo uno de los factores de riesgos más importantes para el desarrollo de la criptococosis del sistema nervioso central, siendo la meningoencefalitis la presentación clínica más común, afectando de un 70% a un 90% de estos pacientes, lo cual constituye un factor importante en la morbilidad y mortalidad en este tipo de infección<sup>11</sup>. Es muy importante un diagnóstico temprano para el éxito terapéutico ulterior<sup>19</sup>. La metodología convencional es una herramienta muy importante para el diagnóstico de un laboratorio de micología, en la detección temprana, de la criptococosis incluye exámenes microscópicos directos de los productos patológicos y su cultivo con el objetivo de lograr el aislamiento del agente y su identificación. El examen microscópico directo de los productos patológicos con tinta china o nigrosina permite un diagnóstico rápido de alta especificidad. Este procedimiento permite distinguir al agente como una levadura gemante encapsulada; en muestras precedentes de lesiones o cavidades cerradas o de LCR<sup>11</sup>.

En el período de tiempo analizado se diagnosticaron 3 casos de micosis diseminadas, una producida por *Histoplasma capsulatum* y las dos restantes causadas por 2 especies de *Candida*; *C. guilliermondii*, y *C. glabrata* confirmados por su aislamiento e identificación a partir de muestras de sangre. Aunque las infecciones mucocutáneas por *Candida* son extremadamente comunes en pacientes con este tipo de inmunodeficiencia, la candidiasis diseminada es poco reportada en los mismos<sup>20</sup>. La histoplasmosis diseminada en pacientes VIH/sida tiene una mortalidad cercana al 50%, y es especialmente elevada en pacientes con manifestaciones severas de la enfermedad que presentan sepsis, fallo respiratorio, y fallo renal agudo<sup>21</sup>. Esta entidad continúa siendo una enfer-

medad infecciosa importante en pacientes infectados con el VIH/sida que viven en áreas endémicas, como lo constituye nuestro país<sup>22</sup>. En nuestro caso, la baja frecuencia observada en estas entidades clínicas pudiera ser debido al tratamiento profiláctico con derivados azólicos, como el fluconazol e itraconazol que les son administrados a estos pacientes como se recomienda en la literatura revisada<sup>23-26</sup>.

En el diagnóstico de las micosis pulmonares muchas veces es preciso realizar procedimientos invasivos para llegar a un diagnóstico definitivo, debido a que las muestras de secreciones respiratorias del tracto respiratorio superior son poco sensibles<sup>27</sup>. En estos 5 años de análisis, confirmamos sólo 4 casos, concernientes a 2 de criptococosis pulmonar e igual número de candidiasis pulmonar. Hay que señalar que en nuestro laboratorio, aún no se realiza el diagnóstico micológico de la pneumocistosis, la cual constituye la causa más común de infección del tracto respiratorio inferior en estos pacientes cuando el conteo de linfocitos T/CD4 disminuye por debajo de 200 por mililitros<sup>28,29</sup>.

Las micosis cutáneas también son comunes en los pacientes infectados por el VIH. Las enfermedades en piel de éstos pueden comenzar como una enfermedad primaria y diseminarse a órganos internos o presentarse como una afección sistémica, como ocurre en algunas enfermedades fúngicas<sup>30</sup>. En nuestro caso durante este período sólo obtuvimos dos casos positivos, referentes a una lesión cutánea producida por *Microsporum canis*, y otra por *Histoplasma capsulatum*, como manifestación de una infección diseminada. En el caso de las dermatofitosis hay estudios que han demostrado que no hay relación directa entre el VIH/sida con el incremento de riesgo de lesiones cutáneas en piel<sup>31</sup>.

El diagnóstico definitivo de la mayoría de las micosis requiere el aislamiento e identificación del hongo a partir del cultivo, lo que supone, con frecuencia, varios días o semanas de dilación. El método más rápido para la detección de estructuras fúngicas en una muestra clínica es el examen microscópico de la misma. Este examen puede aportar un diagnóstico temprano, por ejemplo: en la meningoencefalitis por *Cryptococcus*, pitiriasis versicolor, y en otras infecciones fúngicas. Por lo tanto, el examen directo a partir de muestras clínicas es un procedimiento que debería extenderse a todos los laboratorios de Micología ya que puede hacerse mediante técnicas sencillas, permitiendo dirigir los medios adecuados para el cultivo de la muestra.

La epidemia del VIH/sida en Cuba tiene la más baja tasa de prevalencia en la región del Caribe<sup>5</sup>. Esto ha sido posible por un esfuerzo mancomunado del gobierno que ha facilitado una total cobertura de los medicamentos a los pacientes afectados y un tratamiento multidisciplinario a los mismos. El laboratorio de Micología ha trabajado en función del diagnóstico de las micosis oportunistas que afectan a pacientes inmunodeprimidos, especialmente los infectados por el VIH/sida y la investigación de las características microbiológicas de sus agentes causales.

## Referencias

1. Kumarasamy N, Venkatesh KK, Devaleenol B, Poongulali S, Yephthomi T, Pradeep A, et al. Factors associated with mortality among HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy in southern India. *Int J Infect Dis*. 2010; 14(2):127-31.
2. Dan M, Mereu A, Pânzaru C, Miron I, Turtureanu-Hanganu E, Buiuc D. [Current trends in the epidemiology of bloodstream infections in patients with hematological malignancies and solid neoplasms] *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 2006; 110(1):57-61.
3. Murali S, Langston A. Advances in antifungal prophylaxis and empiric therapy in patients with hematologic malignancies. *Transpl Infect Dis*. 2009; 11(6):480-90.
4. Spellberg B. Prospects for and barriers to a fungal vaccine. *Expert Opin Biol Ther*. 2007; 7(12):1785-8.
5. de Arazoza H, Joanes J, Lounes R, Legeai C, Cléménçon S, Pérez J, Auvert B. The HIV/AIDS epidemic in Cuba: description and tentative explanation of its low HIV prevalence. *BMC Infect Dis*. 2007; 7:130-32.
6. Chitra Y, Urgan S, Dayananda I, Brajachand SN. Effect of anti retroviral therapy (ART) on CD4 T lymphocyte count and the spectrum of opportunistic infections in HIV/AIDS in Manipur. *J Commun Dis*. 2009; 41(1):19-24.
7. Detels R, Tarwater P, Phair JP, Margolick J, Riddler SA, Muñoz A. Effectiveness of potent antiretroviral therapies on the incidence of opportunistic infections before and after AIDS diagnosis. *AIDS*. 2001; 15: 347-55.
8. Atlas of Clinical Fungi, 2nd. Edition by Dr. G.S. de Hoog, J. Guarro, J. Gene & M.J. Figueras. CBS Utrecht, the Netherlands 2000.
9. González A, Tobón MA. Infecciones oportunistas en pacientes con VIH/sida. *Infectio* 2006; 10(4): 279-288.
10. Chattopadhyay A, Patton LL. Risk indicators for HIV-associated jointly occurring oral candidiasis and oral hairy leukoplakia. *AIDS Patient Care STDS*. 2007; 21(11):825-32.
11. Thakur R, Sarma S, Kushwaha S. Prevalence of HIV-associated cryptococcal meningitis and utility of microbiological determinants for its diagnosis in a tertiary care center. *Indian J Pathol Microbiol*. 2008; 51(2):212-4.
12. Figueira-Coelho J, Martins T, Machado J, Maltez F. Cryptococcosis in HIV-infected patients: A report of 84 cases (1985-2008). *Eur J Intern Med*. 2010; 21(3):e16.
13. Buchacz K, Baker RK, Palella FJ Jr, Chmiel JS, Lichtenstein KA, Novak RM, Wood KC, Brooks JT; the HOPS Investigators. AIDS-defining opportunistic illnesses in US patients, 1994-2007: a cohort study. *AIDS*. 2010; 24(10):1549-59.
14. da Silva CA, Costa Dourado MI, Dahia SR, Harzheim E, Rutherford GW. Oral manifestations of HIV infection in patients receiving highly active antiretroviral therapy (HAART) in Bahia, Brazil. *J Public Health Dent*. 68(3): 168-71.
15. Gaitan -Cepeda LA, Ceballos Salobreña A, López Ortega K, Arzate Mora N, Jiménez Soriano Y. Oral lesions and immune reconstitution syndrome in HIV+/AIDS patients receiving highly active antiretroviral therapy. Epidemiological evidence. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2008; 13(2):E85-93.
16. Delgado AC, de Jesus Pedro R, Aoki FH, Resende MR, Trabasso P, Colombo AL, de Oliveira MS, Mikami Y, Moretti ML. Clinical and microbiological assessment of patients with a long-term diagnosis of human immunodeficiency virus infection and Candida oral colonization. *Clin Microbiol Infect*. 2009; 15(4):364-71.
17. Brown RS, Berg W, Schlesinger W, Childers EL. The CDx brush biopsy and the diagnosis of oral candidiasis. *Dent Today*. 2007; 26(8):96, 98-9.
18. Nari GA, Huerta CG, Revelez RB, González AS. Spontaneous esophago-pleural fistula secondary to candidiasis in a patient with human immunodeficiency virus infection. [An infrequent complication of esophageal moniliasis] *Acta Gastroenterol Latinoam*. 2010; 40(1):65-7.
19. Chottanapund S, Singhasivanon P, Kaewkungwal J, Chamroonswasdi K, Manosuthi W. Survival time of HIV-infected patients with cryptococcal meningitis. *J Med Assoc Thai*. 2007; 90(10):2104-2111.
20. Vazquez JA, Sobel JD: *Candidiasis*. Clinical Mycology, Oxford University Press 2003; 143-87.
21. Baddley JW, Sankara IR, Rodriguez JM, Pappas PG, Many WJ Jr. Histoplasmosis in HIV-infected patients in a southern regional medical center: poor prognosis in the era of highly active antiretroviral therapy. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008 62(2):151-156.
22. Chang MR, Taira CL, Paniago AM, Taira DL, Cunha RV, Wanke B. Study of 30 cases of histoplasmosis observed in Mato Grosso do Sul State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2007; 49:37-39.
23. Ruhnke M. Mucosal and systemic fungal infections in patients with AIDS: prophylaxis and treatment. *Drugs*. 2004; 64(11):1163-80.
24. Charlier C, Hart E, Lefort A, Ribaud P, Dromer F, Denning DW, Lortholary O. Fluconazole for the management of invasive candidiasis: where do we stand after 15 years? *J Antimicrob Chemother*. 2006; 57(3):384-410.
25. Goldman M, Cloud GA, Wade KD, Reboli AC, Fichtenbaum CJ, Hafner R, Sobel JD, et al., A randomized study of the use of fluconazole in continuous versus episodic therapy in patients with advanced HIV infection and a history of oropharyngeal candidiasis: AIDS Clinical Trials Group Study 323/Mycoses Study Group Study 40. *Clin Infect Dis*. 2005; 41(10):1473-80.
26. Hanf M, Adenis A, Couppie P, Carme B, Nacher M. HIV-associated histoplasmosis in French Guiana: recent infection or reactivation? *AIDS*. 2010 Jul 17; 24(11):1777-78.
27. Hsu FC, Lin PC, Chi CY, Ho MW, Ho CM, Wang JH. Prognostic factors for patients with culture-positive Candida infection undergoing abdominal surgery. *J Microbiol Immunol Infect*. 2009; 42(5):378-84.
28. Cheng CY, Hung CC, Chen MY, Hsieh SM, Sheng WH, Sun HY, Lo YC, Liu WC. Risk of Pneumocystosis after Early Discontinuation of Prophylaxis among HIV-infected Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy. *BMC Infect Dis*. 2010 May 21; 10(1):126.
29. Podlekareva D, Mocroft A, Kirk O, Reiss P, Aldins P, Katlama C, Kovari H, Stellbrink HJ, D'Arminio Monforte A, Lundgren JD; EuroSIDA Study Group. Fungal infection as a risk factor for HIV disease progression among patients with a CD4 count above 200/microl in the era of cART. *Scand J Infect Dis*. 2008; 40(11-12):908-13.
30. Sobera JO, Elewski BE. Fungal diseases. In: Bologna J, Jorizzo J, Rapini R, editors. *Dermatology*. 2nd ed. New York: Elsevier; 2008; 1135-63.
31. Rodwell GE, Bayles CL, Towersey L, Aly R. The prevalence of dermatophyte infection in patients infected with human immunodeficiency virus. *Int J Dermatol*. 2008; 47(4):339-43.