



Serotipos de *Candida albicans* aislados en pacientes VIH positivos

Margarita Oliver¹, María Ibelise de González², Mireya Mendoza² y María Cecilia Bastardo de Albornoz²

¹Médico Dermatólogo y ²Adjunto Servicio de Dermopatología, Servicio de Micología, Instituto de Biomedicina, Caracas-Venezuela

Fueron estudiados 21 pacientes VIH positivos en diferentes estados de enfermedad, en la búsqueda de candidosis en la cavidad oral encontrándose que todos los pacientes de la categoría clínica C presentaron infección por *Candida*. Las formas clínicas observadas más frecuentes fueron la pseudomembranosa y la hipertrófica, en contraposición con lo descrito por otros autores. La especie de *Candida* aislada en paciente VIH positivos fue *Candida albicans*. La alteración de la inmunidad celular se vio reflejada en la negatividad de las pruebas intradérmicas.

El serotipo predominante de *C. albicans* encontrado en los pacientes VIH positivos fue el A en concordancia con lo encontrado en pacientes no inmunosuprimidos en Venezuela. No hubo correlación entre el serotipo de *C. albicans* encontrado y las formas clínicas de candidosis. En base a nuestros resultados y a los de otros autores no puede hablarse de un serotipo en particular como indicador de inmunosupresión.

Palabras clave

Serotipos, *Candida albicans*, VIH, Sida

Serotypes of *Candida albicans* isolated from HIV positive patients

Summary

Twenty-one HIV-positive patients in different stages of the disease were studied to evaluate candidosis in the oral cavity. All patients in clinical category C were infected with *Candida*. The most frequently observed clinical forms were pseudomembranous and hypertrophic, in contrast to reports by other authors. *Candida albicans* was the species isolated in these HIV-positive patients. Alterations of cell-mediated immunity were reflected in the negativity of intradermal test.

The predominant serotype of *C. albicans* in these patients was A, in agreement with what has been found in non-immunosuppressed patients in Venezuela. There was no correlation between the serotype of *C. albicans* and the clinical forms of candidosis. Based in our results and those of other authors, no conclusions can be drawn concerning a particular serotype as an indicator of immunosuppression.

Key words

Serotypes, *Candida albicans*, HIV, AIDS

El sida, inducido por el retrovirus VIH, está caracterizado por una marcada depresión de la inmunidad celular debido a la reducción y destrucción de los linfocitos TCD₄⁺ cooperadores y algunos macrófagos por el virus. Esto comúnmente conduce a múltiples infecciones oportunistas incluyendo las causadas por hongos.

Desde la primera descripción de casos de sida asociando candidosis de las mucosas con neumonía por *Pneumocystis carinii* [1] el papel de la infección por hongos se ha vuelto más importante.

La más reciente definición clínica de sida reconoce como "indicadores" importantes de enfermedad a la candidosis esofágica, traqueal, bronquial o pulmonar, a la criptococosis meníngea y neumonía por *P. carinii* así como otras infecciones oportunistas producidas por protozoarios, bacterias y virus.

En cuanto a los serotipos A y B de *Candida albicans*, estos fueron descritos inicialmente por Hansenclever y Mitchell [2]. En años recientes ha cobrado cada vez más importancia los estudios inmunológicos en la identificación de los hongos [3]. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la presencia de candidosis oral en pacientes VIH positivos y determinar el serotipo de *C. albicans* más frecuente.

Dirección para correspondencia:

Dr. Mireya Mendoza
Laboratorio de Micología,
Instituto de Biomedicina San Nicolás a Providencia,
San José, Caracas, Venezuela
Tel.: +582 817095; Fax: + 582 8611258
E-mail: mmendoz@telcel.net.ve

Aceptado para publicación el 18 de mayo de 1999

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron con carácter prospectivo 21 pacientes VIH positivos referidos a la consulta de Dermatología del Instituto de Biomedicina e ingresados en el Hospital Vargas de Caracas, para la clasificación clínica de los pacientes se usó la propuesta por el CDC [4] en categorías clínicas A, B, C, tabulándose: edad, sexo, estadio de la enfermedad, tratamientos recibidos y sintomatología relacionada a la cavidad oral; se realizó un examen clínico haciendo especial hincapié en la presencia o no de lesiones en cavidad oral; se practicó hisopado de la misma para examen directo con Clorazol Black-E y cultivo. Para el estudio de la inmunidad celular se realizaron pruebas intradérmicas con candidina, tricofitina, histoplasmina (a la dilución de 1:100 c/u) y PPD, aplicándose 0,1 cc de cada prueba por vía intradérmica, estas fueron leídas a las 48 h, considerándose positiva una induración ≥ 5 mm de diámetro.

Se tomó igualmente un grupo control de VIH negativo formado por 11 pacientes, algunos de ellos sólo con candidosis oral y el resto con una enfermedad de base como leucosis, lupus eritematoso sistémico en tratamiento con esteroides que correspondieron a las características generales de edad y sexo del grupo en estudio.

Los cultivos se realizaron en agar glucosado de Sabouraud en tubo y placa de Petri a temperatura ambiente y se consideró positivo el cultivo en aquellos casos donde se obtuvo un crecimiento extenso de colonias. Los aislados de *Candida* fueron identificados como *C. albicans* a través de la prueba de bilis con producción de clamidosporas terminales a las 24-48 h y producción de tubos germinativos a 37°C después de 2-3 h. Las especies diferentes de *C. albicans* fueron identificadas por estudios de auxograma y morfología en medio agar harina de maíz tween 80 [5,6].

Los sueros hiperinmunes para cada serotipo en particular, fueron obtenidos en el Laboratorio de Micología del Instituto de Biomedicina, a partir de conejos blancos de New Zealand. Se emplearon las cepas tipificadas de *C. albicans* 3153 (Serotipo A) y 3156 (Serotipo B). Los conejos fueron inoculados por vía intramuscular con 0,5 ml del inóculo (1×10^7 células tratadas con formol al 1% y lavadas tres veces con solución salina estéril) y 0,5 ml del adyuvante completo de Freund. El resto de las inoculaciones se llevó a cabo con adyuvante incompleto de Freund. Se realizó un total de 10 inoculaciones. Los animales fueron sangrados a la tercera, sexta y décima semana después de la primera inoculación. Los inmunoseros de cada serotipo, fueron absorbidos cada uno con su antígeno heterólogo según el procedimiento descrito por Poulain y col. [7]. Las pruebas de aglutinación en lámina con los sueros previamente absorbidos se llevaron a cabo en láminas porta-objetos colocando 10 ml del suero puro y 10 μ l de la suspensión celular de 10^6 blastosporas/ml de cada aislamiento. Se empleó como control, el antígeno con la solución diluyente y las cepas de referencia de *C. albicans* 3153 y 3156. La muestra fue agitada durante 1 min y la aglutinación fue apreciada a nivel macroscópico y microscópico.

RESULTADOS

Se estudiaron 32 pacientes; 21 de ellos correspondieron al grupo VIH positivo (tres mujeres y 18 hombres) con edades comprendidas entre 14 y 57 años, (edad media = 30,4 años) y 11 de ellos pertenecientes al grupo control (tres mujeres y ocho hombres) con edades comprendidas entre 14 y 52 años (edad media = 31,5).

De los 21 pacientes VIH positivos, 19 pertenecían a la categoría clínica C (90,4%), dos a la categoría clínica B (9,5 %). De estos pacientes sólo dos (los que pertenecen a la categoría clínica B) no presentaban lesiones clínicas compatibles con candidosis; los restantes 19 pacientes presentaron candidosis oral de diferentes tipos clínicos (Figura 1), algunos de ellos con varias formas clínicas, predominando el tipo pseudomembranoso (9 = 47,4 %) que en algunos casos se presentaba con queratitis. El sitio más frecuente afectado por lesiones en la cavidad oral lo constituyó la lengua (8 = 42,1 %) seguido del paladar (6 = 31,5 %) (Figura 2). Las patologías concomitantes encontradas en el grupo de pacientes VIH positivos fueron variadas, predominando la toxoplasmosis (21%) (Tabla 1). Algunos pacientes (31,5 %) se encontraban recibiendo tratamientos antimicóticos (ketoconazol, fluconazol y/o nistatina) a pesar de lo cual desarrollaron candidosis oral. Las pruebas intradérmicas fueron aplicadas a 13 pacientes (PPD, candidina, histoplasmina y tricofitina) y resultaron negativas en 12; un paciente del grupo C obtuvo positividad a la candidina.

Tabla 1. Patologías asociadas en pacientes infectados o no con VIH.

Patologías asociadas VIH +		Patologías subyacentes VIH -	
Toxoplasmosis	4 (21,1 %)	Sanos	3 (27,54 %)
Neumocistosis	3 (15,78 %)	LLA	2 (18,18 %)
Hemofilia	3 (15,78 %)	Linfomas	2 (18,18 %)
Histoplasmosis	2 (10,52 %)	LES	1 (9,09 %)
Sarcoma de Kaposi	2 (10,52 %)	Adenocarcinomas	1 (9,09 %)
TBCP	2 (10,52 %)	Tiña corporis	1 (9,09 %)
Hepatitis	2 (10,52 %)		
Síndrome de Addison	1 (5,26 %)		
Síndrome diarreico	1 (5,26 %)		

LES = Lupus Eritematoso Sistémico.
LLA = Leucemia Linfóide Aguda
TBCP = Tuberculosis pulmonar.

El grupo VIH negativo estuvo conformado por 11 pacientes, tres de ellos sanos y el resto con patologías subyacentes siendo la más común las hemopatías malignas (36,4 %) (Tabla 1); sólo tres pacientes presentaron clínica de candidosis oral, dos pacientes aparentemente sanos y un paciente con LES en tratamiento esteroideo, en los cuales se encontraron varias formas clínicas (Figura 1). Ninguno de los pacientes del grupo control recibía tratamiento antimicótico previo. El 54,5 % de ellos resultó ser reactivo a por lo menos una prueba intradérmica, en contraste con el grupo VIH positivo.

El estudio micológico del grupo VIH positivo reveló la presencia de blastosporas al examen directo en todos los pacientes con lesiones clínicas de candidosis oral (17 = 89,47 %) y se obtuvo aislamiento del hongo en 15 de los casos (78,9 %). El agente aislado más frecuentemente fue *C. albicans* (12 = 80 %) encontrándose otras especies del género (*Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii*) en el 20 % de los casos. En el grupo VIH negativo, el examen micológico directo fue positivo en el 27,3 % de los casos que igualmente correspondieron a los pacientes con lesiones clínicas y fueron aisladas especies diferentes de *C. albicans* en tres de los casos (100 %).

Mediante el procedimiento de serotipificación se encontró que el 91,6 % de los aislamientos de *C. albicans* obtenidos del grupo VIH positivo correspondieron al serotipo A, siendo el 8,4 % del serotipo B. No se aisló *C. albicans* en el grupo VIH negativo.

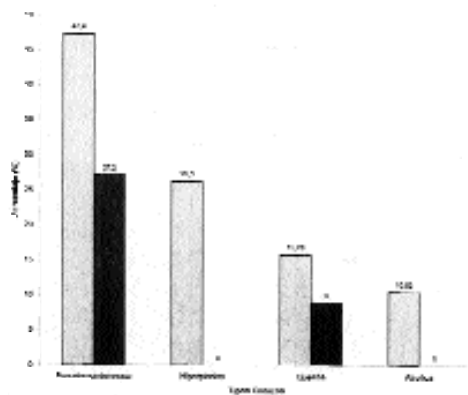


Figura 1. Tipos clínicos de candidosis oral en pacientes infectados y no infectados con el VIH.

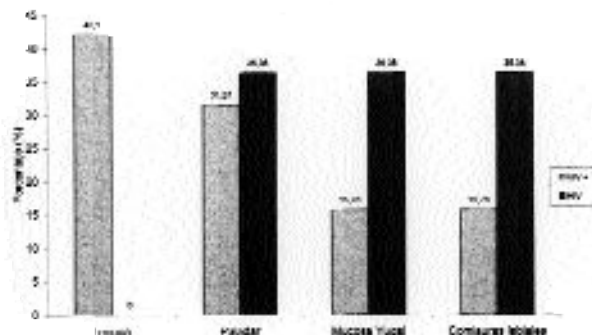


Figura 2. Localización de las lesiones en pacientes infectados y no infectados con el VIH.

DISCUSIÓN

La primera descripción de sida realizada por Glottlieb y col. [1] menciona no solamente la neumonía por *P. carinii* sino también a la candidosis oral. Estudios previos indican que el frecuente aislamiento de *Candida* y a su vez la presencia de signos clínicos de candidosis oral aumenta con el estadio de la infección por VIH. Así, de 62 pacientes VIH positivos se aisló *C. albicans* de la mucosa oral en 57,5 % en estadio I, 76,5 % en estadio II y 87,5 % en estadio III [8]. Aunque la infección por *Candida* en pacientes VIH positivos varía en un amplio rango según los diferentes autores, la mayoría muestra frecuencias mayores del 50%, lo que significa que uno de cada dos individuos VIH positivos puede desarrollar candidosis oral.

Klein y col. [9] en un estudio de 22 adultos aparentemente sanos con candidosis oral inexplicable, observaron que 19 tenían reversión de la relación CD_4 / CD_8 y 20 tenían linfadenopatías generalizadas; 13 de ellos (59%) presentaron una infección oportunista mayor o sarcoma de Kaposi en un intervalo medio de tres meses. Al compararse con un grupo similar, pero sin candidosis, ninguno desarrolló infecciones oportunistas en un periodo de seguimiento de 12 meses. Los autores concluyen que la candidosis oral en estos individuos predice el desarrollo de infección oportunista o sarcoma de Kaposi en el 50 % de los casos y se ha sugerido que la candidiasis produce un efecto inmunosupresor por los antígenos polisacáridos circulantes.

En Venezuela no contamos con registros epidemiológicos confiables en cuanto a la presencia de candidosis oral en pacientes VIH positivos. Fernández y Mandel [10], en una revisión realizada en Venezuela entre 1988 y 1989 encontraron en 419 pacientes con sida que 43 presentaban diagnóstico de enfermedad micótica profunda tales como histoplasmosis (23 casos), criptococosis (14 casos), paracoccidioidomicosis (un caso), candidosis sistémica (tres casos), no señalándose la presencia de candidosis oral en estos pacientes por lo que consideramos que existe un subregistro importante en esta entidad.

Estudios previos señalan que de las variantes clínicas de candidosis, la eritematosa y atrófica aguda es la más frecuente, seguida por las formas pseudomembranosa y queilitis angular; la variante hiperplásica es la menos común [11,12]. Por el contrario, en nuestro grupo la forma más común fue la pseudomembranosa seguida por la forma hiperplásica y la queilitis siendo la forma eritematosa la menos frecuente. Otra característica de la candido-

sis en pacientes VIH positivos es la presentación mucosa multifocal descrita por otros autores en el 62% de 105 pacientes VIH positivos, señalando como posible causa la alteración del mecanismo de defensa por depleción severa de las células T ayudadoras inducido por el virus [13]. Este hecho también fue observado en nuestro estudio donde la localización más frecuente fue la lengua seguido por el paladar, mucosa yugal y comisuras.

La realización de los exámenes directos permitió confirmar la impresión diagnóstica, lo cual tuvo buena correlación con los resultados del cultivo. En los pacientes VIH positivos se aisló en forma predominante *C. albicans*. Mientras que en estudios realizados en pacientes con hemopatías malignas por Schneider y cols. [14] en el Hospital Vargas aíslan *C. albicans* en el 50% de los casos, el otro 50% estuvo representado también por las especies *C. tropicalis* y *C. guilliermondii*.

La falta de respuesta ante los antígenos presentados reflejado por la negatividad de las pruebas intradérmicas en el estudio de la inmunidad celular se explica por el reducido número de linfocitos T CD_4^+ [15].

Numerosos investigadores han estudiado la estructura antigénica de *C. albicans* para identificar y caracterizar antígenos que faciliten el desarrollo de pruebas diagnósticas. Por su localización en las capas externas de la pared celular los antígenos superficiales han podido ser estudiados sin necesidad de ser extraídos. Hansenclever y Mitchell [2] utilizando antisueros absorbidos con distintas cepas de *C. albicans* describieron mediante aglutinación en tubo dos serotipos que denominaron A y B. Aunque la mayor parte de los antígenos son comunes, el serotipo A tiene uno o más antígenos que no están presentes en el serotipo B.

Diversos autores han demostrado que las diferencias antigénicas entre los serotipos A y B se encuentran en los mananos, habiéndose sugerido que la longitud de las cadenas laterales y la extensión de los enlaces alfa podrían ser los responsables de estas diferencias en la relatividad.

Varios estudios hechos en aislamientos clínicos europeos [16,17] han mostrado que el serotipo A predomina en forma casi absoluta, encontrándose con mayor frecuencia en aislamientos clínicos del aparato respiratorio, digestivo y boca.

Estudios realizados en Venezuela por Mendoza y col. [18] con aislamientos de *C. albicans* obtenidos de pacientes no inmunocomprometidos con diversas formas clínicas de candidosis, procedentes de diferentes regiones del país, encuentran al serotipo A como el más frecuente (69%). Por otra parte, se ha encontrado en estudios ameri-

canos una incidencia del serotipo B, mayor que la descrita en los países europeos [19] y ha sido referido que individuos inmunosuprimidos pueden presentar una doble probabilidad de estar colonizados o infectados con dicho serotipo [16].

Drouhet y Dupont [20] encontraron que en 135 pacientes VIH positivos el 52,6% de los aislamientos correspondieron a serotipo A y el 42,7% al serotipo B. En nuestro estudio el serotipo más frecuente fue el A en el 92,3 % de los aislados manteniéndose el predominio observado de dicho serotipo en la población no inmunosuprimida del país. No hubo correlación entre el serotipo encontrado y la forma clínica de candidosis.

También Drouhet [20] ha descrito variaciones en los serotipos durante la evolución de la enfermedad, indicando que cinco aislamientos de serotipo A fueron reemplazados por B y que un serotipo B fue reemplazado por A. Sería interesante el seguimiento de nuestros pacientes con el fin de determinar si existen cambios en los serotipos. En vista de que no se encuentra una diferencia en los serotipos entre los pacientes VIH y los no inmunosuprimidos pensamos que no se puede hablar de un serotipo en particular como indicador de inmunosupresión.

El tratamiento de la infección fúngica en esta población de pacientes puede ser frustrante, algunos pacientes con sida responden rápidamente al tratamiento apropiado, pero estos individuos raramente son curados de su infección. Esto queda reflejado también en el 33,3% de nuestros pacientes los cuales a pesar de que se encontraban recibiendo tratamiento presentaban lesiones clínicas y se obtuvo crecimiento del hongo en todos los casos. Esta falta de respuesta al tratamiento es debido a que la anomalía inmunológica subyacente no es corregida en ese tiempo, y a que las drogas empleadas con mayor frecuencia como los azoles son fungistáticas por lo cual los pacientes con sida requieren tratamiento antifúngico de por vida para evitar recurrencias de su infección. Debe tenerse en cuenta que la mejoría en el cuidado de los pacientes con sida está en el diagnóstico temprano de la infección fúngica, la institución temprana de la apropiada terapia antifúngica y el intento en la restauración inmunológica a través de la quimioterapia antiviral.

Trabajo subvencionado por el proyecto
BTS-66 BID-CONICIT-UCV

Bibliografía

1. Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, et al. *Pneumocystis carinii* neumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men. *N Engl J Med* 1981; 305: 1425-1431.
2. Hanseclever HF, Mitchell WO. Antigenic studies of *Candida* I. Observations of two antigenic groups in *C. albicans*. *J Bacteriol* 1961; 82: 570-573.
3. Pontón J, Réguez P, Quindós G, Cisterna R. La composición antigénica de *Candida albicans* y su aplicación al diagnóstico de las candidiasis. *Rev Iberoam Micol* 1990; 7: 122-132.
4. Chang J W. The New AIDS case definition implications for San Francisco. *JAMA* 1992; 267: 267-973.
5. McGinnis MR. *Laboratory Hand Book of medical mycology*. 1 ed. London, Academic Press, 1980.
6. Odds FC, Abbott AB, Reed TAG, Willmontt FE. *Candida albicans* strain types from the genitalia of patients with and without *Candida* infection. *Eur J Obst Gyn Repr Biol* 1983; 15: 37-43.
7. Poulain D, Tronchin G, Vermes A, Popeye R, Biguet J. Antigenic variations of *Candida albicans* in vivo and in vitro. Relationships between P. antigens and serotypes. *Sabouraudia* 1983; 21: 99-112.
8. Korting HC, Ollert M, Georgii A, Fröschl M. In vitro susceptibilities and biotypes of *Candida albicans* isolates from the oral cavities of patients infected with human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 2626-2631.
9. Klein RS, Harris CA, Small CB, Moll B, Lesser M, Friedland G. Oral candidiasis in high-risk patients as the initial manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome. *N Eng J Med* 1984; 311: 354 - 358.
10. Fernández R, Mandel S. Micosis profundas en pacientes con SIDA. *Boletín de las Micosis en Venezuela* 1990. Año VI, N° 17 (Mayo- Agosto).
11. Samaranyake LP, Holmstrup P. Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection. *J Oral Pathol Med* 1989; 18: 554 - 564.
12. Syrjanen S, Valley SL, Antonen J, et al. Oral candidal infection as sign of HIV infection in homosexual men. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988; 65: 36-40.
13. Cahn P, Casariego Z, Perez H. Erythematous candidiasis: early clinical manifestation in HIV- reactive patients. *5 Int Conf AIDS*, Montreal. 1989.
14. Schneider C, Bergel J P, Albornoz MC. Hemopatías malignas y micosis. Tesis de grado, Universidad Central de Venezuela, 1989.
15. Klatzmann D, Champagne E. The T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature* 1984; 312: 767-770.
16. Barturen B, Quindós G, San Millán R, et al. Distribución de los serotipos de *Candida albicans* en aislamientos clínicos de personas inmunocompetentes e inmunodeprimidas. *Rev Iberoam Micol* 1996; 13: 10-13.
17. Torres Rodríguez JM, Nicolas MC, Madrenys N, Gallach-Baun C. Distribución de los serotipos A y B de *Candida albicans* en 502 cepas aisladas de productos patológicos. *Med Clin (Barc.)* 1991; 97: 1-3.
18. Mendoza M, Russian E, Villanueva E, Torres ED, Albornoz MB de. Serotipificación de 48 aislados de *Candida albicans* procedentes de diferentes regiones de Venezuela. *Invest Clin* 1991; 33: 33-37.
19. Auger P, Dumas C Joly J. A study of 666 strains of *Candida albicans*: correlation between serotype and susceptibility to 5 fluorocytosine. *J Infect Dis* 1979; 135: 590-594.
20. Drouhet E, Dupont B. *Mycoses in AIDS patients*. Plenum Press, New York, 1990.