



Criptococcosis respiratoria en pacientes VIH positivos

Silvia Helou, Ana María Robles, Alicia Arechavala, Mario I. Bianchi y Ricardo Negroni

Unidad de Micología del Hospital de Infecciosas Francisco Javier Muñiz, Buenos Aires, Argentina

Pese a ser la puerta de entrada de la infección, las manifestaciones respiratorias de la criptococosis asociada al sida han sido poco estudiadas. Esto se debe a que las alteraciones clínicas y radiológicas que produce no son características y a que la detección de *Cryptococcus neoformans* en las secreciones bronquiales tiene un valor diagnóstico incierto.

En este trabajo presentamos los hallazgos clínicos y microbiológicos de 22 pacientes VIH positivos que presentaron *C. neoformans* en muestras clínicas del aparato respiratorio. Diecisiete fueron varones y cinco mujeres y la edad promedio fue de 30,8 años (21-50 años). Se detectaron los siguientes factores de riesgo para la infección por el VIH: adicción a drogas por vía venosa en 18, heterosexuales con parejas múltiples, en dos, una prostituta y un homosexual masculino. Todos tenían recuento de células CD4 + inferiores a 100/μL, excepto tres casos.

Los síntomas observados fueron fiebre, tos, expectoración mucosa y dolor torácico. Radiológicamente se observaron infiltrados pulmonares difusos en once casos, cavidades pulmonares en tres, nódulos pseudotumorales en dos, infiltrado focal en dos y derrames pleurales en cuatro pacientes. *C. neoformans* fue visualizado y/o aislado de esputo en nueve enfermos, de lavados broncoalveolares en siete, del líquido pleural en cuatro y de punción biopsia pulmonar en un caso. Los hemocultivos fueron positivos en 13 enfermos, los urocultivos en 10 y los cultivos de LCR en 11 casos. Tres enfermos presentaron el citodiagnóstico de pápulas cutáneas positivo para *C. neoformans*. La búsqueda del antígeno capsular de *C. neoformans* en el suero fue positiva en 19 casos y en el líquido cefalorraquídeo en 14. Siete enfermos presentaron tuberculosis activa simultáneamente.

De acuerdo a los hallazgos de este estudio, la presencia de *C. neoformans* en las secreciones bronquiales de pacientes VIH positivos es una señal de la criptococosis diseminada y obliga a demostrar la presencia de *C. neoformans* o su antígeno capsular en otras muestras clínicas, a fin de confirmar el diagnóstico. Tal como se ha comprobado en trabajos anteriores las manifestaciones clínico-radiológicas de la criptococosis pleuropulmonar asociada al sida no fueron características.

Criptococosis, *Cryptococcus neoformans*, Manifestaciones pulmonares

Respiratory cryptococcosis in HIV positive patients

Summary

Although the lungs are the portal of entry of the infection, respiratory manifestations of AIDS related cryptococcosis have not been very well studied. The lack of typical findings in clinical and roentgenographic studies and the difficulties in the interpretation of the isolation of *Cryptococcus neoformans* from bronchial secretions, is probably the explanation for the lack of interest on this subject.

The clinical and microbiological findings of 22 HIV positive patients, who presented *C. neoformans* in their respiratory tract clinical samples, are presented. Seventeen were males and 5 females, their age average was 30.8 years (21-50 years) and the following risk factors for HIV infection were detected: intravenous drug abuse 18, heterosexuals with several sexual partners two, one female prostitute and 1 homosexual man. All patients, except three, showed less than 100 CD4 + cells per μL.

The following symptoms were observed: fever, cough, mucoid expectoration and chest ache. Roengenographic studies presented diffuse infiltrative patches in eleven cases, pulmonary cavities in three, pseudotumoral nodules in two, pneumo-

Dirección para correspondencia:

Dr. Ricardo Negroni
Unidad de Micología del Hospital de Infecciosas
Francisco Javier Muñiz, Uspallata 2272,
(1282) Buenos Aires, Argentina
Fax: +54 11 508 3705 / 804 5193

Aceptado para publicación el 14 de junio de 1999

nic infiltration in two and pleural effusion in four patients. *C. neoformans* was observed and/or isolated from sputum in nine patients, from bronchoalveolar lavage in seven, from lung biopsy in one and from pleural effusion in four cases. Blood cultures for *C. neoformans* were positive in 13 cases, urine cultures in 10 and in 11 patients *C. neoformans* was isolated from C.S.F. The latex agglutination tests for *C. neoformans* capsular polysaccharide rendered positive results in serum samples from 19 patients and from C.S.F. in 14 cases. Seven cases also presented active tuberculosis.

According to these findings, it seems that the isolation of *C. neoformans* from bronchial secretion of HIV positive patients is a signal of disseminated cryptococcosis. It is important to isolate *C. neoformans* or detect its capsular antigen from other clinical samples in order to confirm the diagnosis of disseminated cryptococcosis. As observed in other studies, pleuropulmonary cryptococcosis does not present a typical clinical pattern.

Key words Cryptococcosis, *Cryptococcus neoformans*, Pulmonary manifestations

La criptococosis es la micosis grave que se asocia con mayor frecuencia al sida [1]. En la Argentina su incidencia es mayor que en los Estados Unidos y Europa, superando el 10 % de los casos de sida [2]. Se presenta habitualmente como una complicación en pacientes con infección por VIH muy avanzada, con recuentos de células CD4 + inferiores a 200/ μ L [3]. La infección por *Cryptococcus neoformans* se produce por vía inhalatoria y afecta en primer término al pulmón. Sin embargo, las manifestaciones clínicas y radiológicas de la criptococosis respiratoria en pacientes VIH positivos no ha recibido una atención acorde con su importancia [4]. Este hecho puede ser debido a que no presenta signos o síntomas característicos y a que el aislamiento de *C. neoformans* de las secreciones respiratorias no es una prueba suficiente para afirmar el diagnóstico de criptococosis [5]. Por otra parte, es frecuente la coexistencia de esta micosis con otras infecciones graves, algunas de las cuales comprometen las pleuras y los pulmones [2].

En este estudio presentamos los datos clínicos y radiológicos de 22 pacientes VIH positivos, en los cuales se encontró *C. neoformans* en muestras clínicas del tracto respiratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes incluidos. Este es un estudio retrospectivo en el que se analizaron las historias clínicas de 22 pacientes VIH positivos, en los que *C. neoformans* fue observado microscópicamente y/o aislado en cultivos de muestras clínicas del aparato respiratorio.

Se procuró establecer la existencia de una criptococosis diseminada mediante el estudio de hemocultivos, muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR), citodiagnóstico de lesiones cutáneas, urocultivos y la demostración del antígeno capsular de *C. neoformans* en suero, LCR y orina.

Los hemocultivos se llevaron a cabo por la técnica de lisis-centrifugación de acuerdo a un procedimiento publicado previamente [6].

Las muestras de LCR fueron centrifugadas, el sedimento fue examinado microscópicamente en preparaciones montadas con tinta china diluida, entre porta y cubreobjetos con 400 aumentos y se procedió a sembrar el sedimento remanente en agar-miel de Sabouraud, agar infusión de cerebro y corazón y agar girasol. Los cultivos se incubaron a 28°C y 37°C durante 15 días y para la

identificación de las colonias se efectuó examen microscópico con tinta china, prueba de ureasa en medio de Christensen y producción de feniloxidasas en agar-girasol. Para los detalles de estas técnicas pueden consultarse publicaciones anteriores [7-9].

Los cultivos de orina y secreciones bronquiales se llevaron a cabo mediante la siembra del sedimento de la muestra, después de la centrifugación, en agar-miel, agar infusión de cerebro y corazón y agar-girasol con antibióticos antibacterianos, incubados a 28°C y 37°C, durante dos semanas. El examen microscópico del sedimento se realizó en igual forma que para el LCR.

El citodiagnóstico se efectuó mediante la obtención del material de pápulas ulceradas, por escarificación con lámina de bisturí estéril, de estas lesiones. La muestra extraída se extendió sobre dos portaobjetos y se procedió a efectuar una tinción de Giemsa.

La determinación de la presencia de antígeno capsular en las distintas muestras se practicó con un equipo de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con suero de conejo antipolisacárido capsular del *C. neoformans* (IMMY Látex Crypto antigen detection system, EE.UU.). Las muestras fueron diluidas 1/10, 1/100, 1/1.000, 1/5.000 y 1/10.000. Las variedades de *C. neoformans* fueron establecidas usando el medio de glicina-canavanina-azul de bromotimol (GCB) [10].

La serología de VIH fue realizada por la técnica de ELISA y confirmada por Westernblott.

RESULTADOS

Los pacientes incluidos en este estudio presentaron los siguientes datos demográficos: 17 fueron de sexo masculino y cinco del femenino, las edades variaron entre 21 y 50 años, con un promedio de 30,8 años. Se registraron los siguientes factores de riesgo para adquirir la infección por el VIH: adicción a drogas por vía venosa (18), promiscuidad heterosexual (2), homosexualidad masculina (1) y prostitución (1). La totalidad de los pacientes procedía de la ciudad de Buenos Aires o su conurbación.

Diecinueve de los 22 casos examinados padecían una infección por VIH muy avanzada, con recuentos de células CD4 positivas inferiores a 100/ μ L (rango 3-84/ μ L) y los tres pacientes restantes presentaron recuentos de 118, 454 y 761 células CD4⁺/ μ L respectivamente. Sufrían además otras afecciones oportunistas que a continuación mencionamos: tuberculosis (siete casos), neumocistosis

(1), criptosporidiosis (1), toxoplasmosis cerebral (1), salmonelosis (1), sífilis (1) e infección HTLV1 (un paciente). Cabe destacar que en nueve de los 22 enfermos (23,3 %) la criptococosis fue la primera manifestación de sida.

Las manifestaciones clínicas que presentaron los pacientes en el momento de su internación están expuestas en la tabla 1. Las imágenes radiológicas observadas en este grupo de pacientes fueron las que a continuación transcribimos: infiltrados intersticiales bilaterales en once casos, derrames pleurales en cuatro, cavidades pulmonares en tres, nódulos pseudotumorales en dos e infiltrados densos localizados en dos (Figuras 1 y 2). Los dos pacientes que presentaron nódulos pseudotumorales tuvieron estudios especiales; en uno se efectuó una punción biopsia con aguja fina que demostró la presencia de *C. neoformans* en el parénquima pulmonar; el otro paciente falleció por una septicemia estafilocócica y en la autopsia se comprobó que el nódulo estaba constituido en su mayor parte por un linfoma de células B, pero presentaba *C. neoformans* en su interior.

Tabla 1. Manifestaciones clínicas exhibidas por este grupo de enfermos en el momento del estudio.

Fiebre, astenia y pérdida de peso	21
Tos	18
Expectoración mucosa	16
Disnea	11
Síndrome neurológico	10
Hepatosplenomegalia	7
Dolor torácico	6
Adenomegalias	6
Lesiones cutáneas	4
Diarrea	3
Ictericia	2
Amaurosis	2
Insuficiencia renal	1

El síndrome neurológico consistió, en la mayoría de los casos, en cefalea, vómitos y fotofobia, en tres hubo convulsiones, uno presentó lumbociatalgia bilateral y problemas en la marcha, ningún enfermo exhibió un cuadro meníngeo completo.

Las lesiones cutáneas fueron pápulas moluscoideas en tres casos y púrpura en el restante.

Los resultados de los estudios micológicos de diversas muestras clínicas, así como los de la detección de antígeno capsular de *C. neoformans* se resumen en la tabla 2. Los títulos de antigenemia variaron de 1 a 10.000 (valor medio: 49,6) y los de antigenorraquia de 1 a 10.000 (valor medio: 304).

Todos los aislamientos pertenecieron a la variedad *neoformans* de *C. neoformans*.

Los tratamientos indicados fueron anfotericina B por vía venosa, a la dosis media de 0,7 mg/kg/día (en once enfermos); anfotericina B intravenosa, seguida de fluconazol por vía oral en dosis variables de 200 a 400 mg/día, (tres pacientes); anfotericina B a razón de 0,4 mg/kg/día asociada a 5-fluorocitosina en dosis de 100 mg/kg/día (dos enfermos); y fluconazol en dosis de 600 mg/día (tres casos). Cuatro pacientes no recibieron tratamiento, en uno porque no pudo comprobarse criptococosis diseminada y tres porque murieron precozmente. La supervivencia fue inferior a seis meses en 18 de los 22 casos, en cinco de ellos fue menor a las cuatro semanas y la muerte estuvo directamente relacionada a la criptococosis meníngea. Los restantes casos murieron de diversas afecciones que coexistían con la criptococosis y cuatro pacientes están aún vivos.

Tabla 2. Resultados de los estudios micológicos efectuados.

Muestra clínica	Examen microscópico positivo	Cultivos positivos	Antígeno positivo
Espuito	7	9	-
Lavado broncoalveolar	5	7	6
Líquido pleural	2	4	3
Hemocultivos	-	11	-
Orina	7	10	10
Líquido cefalorraquídeo	9	11	14
Suero	-	-	19

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El pulmón es la puerta de entrada de la infección por *C. neoformans*, la mayor parte de las veces esta neumonitis primaria es subclínica y pasa inadvertida. En los huéspedes inmunocompetentes suele permanecer como nódulos pulmonares de infección latente. En los pacientes con alteraciones de la inmunidad mediada por células debidas a linfomas, tumores sólidos, sarcoidosis, enfermedades del colágeno, terapéutica con corticoides y otras drogas inmunosupresoras, se produce la reactivación de estos focos de latencia y la infección se propaga por vía sanguínea a otros órganos, en particular al sistema nervioso central, produciendo meningitis o meningoencefalitis [3,11].

Vandepitte [4] señala que los datos acerca de la frecuencia del compromiso respiratorio en la criptococosis asociada al sida son extremadamente variables, desde el 4% al 50% [5,11,12]. Esta discrepancia puede deberse a la coexistencia con otras infecciones pulmonares muy comunes en pacientes VIH positivos como la neumocistosis, la tuberculosis y las neumonías bacterianas. A esto debe agregarse el escaso valor diagnóstico que tiene el aislamiento de *C. neoformans* en los cultivos de secreciones bronquiales, ya que se ha comprobado que en enfermos inmunocomprometidos o con patologías pulmonares previas, sólo la observación histopatológica de la invasión del parénquima pulmonar permite confirmar el diagnóstico de criptococosis pulmonar [1,3]. Otras muestras clínicas, como el líquido pleural o las biopsias perbronquiales poseen un elevado valor diagnóstico [3].

Otro hecho que dificulta el reconocimiento de la criptococosis pulmonar es que sus manifestaciones clínicas y radiológicas no son típicas. El 35 % de los enfermos VIH positivos con criptococosis, exhibe tos con expectoración mucosa y la imagen radiológica predominante son los infiltrados intersticiales, retículonodulillares y bilaterales [3], con mucha menor asiduidad se observan derrames pleurales, bloques neumónicos y cavidades pulmonares.

En la República Argentina alrededor del 10 % de los enfermos con sida padece criptococosis y ésta constituye una de las causas más frecuente de muerte [13]. En estudios anteriores demostramos que esta infección fúngica se presenta, en los enfermos con sida, con tres síndromes, el infeccioso general, el neurológico y el respiratorio. El 10 % de los casos sólo tiene el primero de ellos y el diagnóstico se lleva a cabo por los hemocultivos. Los restantes tienen manifestaciones neurológicas que ayudan a sospechar la enfermedad, pero el 44,7 % de los enfermos estudiados por nosotros presentaron signos y síntomas del aparato respiratorio, la mayor parte de las veces atribuidos a otras patologías [2].

La dificultad para efectuar biopsias por toracotomía en estos pacientes extremadamente graves y el escaso valor de la punción biopsia pulmonar con aguja fina en los



Figura 1. Neumopatía aguda excavada en un paciente VIH positivo, con criptococosis diseminada.



Figura 2. Nódulo pulmonar solitario en un enfermo VIH positivo, con criptococosis diseminada. La autopsia demostró la coexistencia de *Cryptococcus* y un linfoma de células B.

infiltrados difusos, tornan poco aptos estos procedimientos para certificar el diagnóstico. Por esta razón buscamos a través del estudio clínico y del examen micológico de otras muestras, afirmar o negar el valor del hallazgo de *C. neoformans* en las secreciones bronquiales.

En este grupo de pacientes pudimos comprobar que el aislamiento de *C. neoformans* de muestras del aparato respiratorio, coincidió en 19/22 casos con la comprobación de este microorganismo en otras muestras clínicas de indiscutible valor diagnóstico; cabe destacar que en uno de estos pacientes se comprobó la presencia de *C. neoformans* en una punción biopsia pulmonar con aguja fina, cuyo valor diagnóstico es mayor. Las tres excepciones correspondieron, en dos casos, a pacientes con derrames pleurales que tenían más de 400 células CD4 +/ μ L de sangre y en los cuales se aisló *C. neoformans* del líquido pleural, cuyo valor diagnóstico es reconocido. Sólo en una paciente fue imposible comprobar la existencia de una criptococosis diseminada o invasiva.

Tal como afirmamos previamente las manifestaciones clínicas y radiológicas de esta micosis no son características y en ocho de los 22 pacientes se documentaron tuberculosis y neumocistosis, además de la criptococosis pulmonar.

Lo observado en este estudio indica que no debe desprezarse la búsqueda de *C. neoformans* en las secreciones respiratorias de pacientes VIH positivos, muchas veces puede ser la primera evidencia de una criptococosis diseminada y que la presencia de otros agentes infecciosos muy frecuentes como el *Mycobacterium tuberculosis* o el *Pneumocystis carinii* no invalida la importancia del hallazgo de *C. neoformans*.

Bibliografía

1. Diamond RD. *Cryptococcus neoformans*. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (Eds.) Principles and practice of infectious diseases. 4th Ed. New York, Churchill Livingstone, 1995: 2331-2340.
2. Negroni R. Micosis asociadas con el SIDA. En: Benetucci J (Ed.). SIDA y Enfermedades Asociadas. Buenos Aires, López Libreros Editores, 1997: 223-239.
3. Kerkering TSM, Turik MA. Pulmonary cryptococcosis. In: Sarosi GA, Davies SF (Eds.) Fungal diseases of the lung. New York, Raven Press, 1993: 95-111.
4. Vandepitte J. Clinical aspects of cryptococcosis in patients with AIDS. In: Vanden Bossche H, et al. (Eds.) New York, Plenum Press, 1990: 115-122.
5. Wasser L, Talavera W. Pulmonary cryptococcosis in AIDS. Chest 1987; 92: 692-698.
6. Bianchi M, Negroni R. Estudio comparativo de dos sistemas de hemocultivos en micosis sistémicas asociadas al SIDA. Rev Arg Dermatol 1993; 74: 1-4.
7. Arechavala A, Robles AM, Negroni R, Bianchi M, Taborda A. Valor de los métodos directos e indirectos de diagnóstico en las micosis sistémicas asociada al SIDA. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1993; 35: 163-167.
8. Negroni P, Negroni R. Micosis cutáneas y viscerales. 9ª Ed. Buenos Aires, López Libreros Editores, 1990.
9. Negroni R. Lecciones de Clínica Micológica. Buenos Aires, Editorial Agenda 1997.
10. Kwon-Chung KJ, Polachek J, Bennett JE. Improved diagnostic medium for separation of *Cryptococcus neoformans* var *neoformans* (serotypes A and D) and *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* (serotypes B and C). J Clin Microbiol 1982; 15: 535-538.
11. Zuger A, Louie E, Holzmann RS, Simberkoff MS, et al. Cryptococcal disease in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Diagnostic features and outcome of treatment. Am Intern Medicine 1986; 104: 234-240.
12. Kovacs JA, Kovacs AA, Polis M, Wright WC, et al. Cryptococcosis in the acquired immunodeficiency syndrome. Ann Intern Medicine 1985; 103: 533-538.
13. Bava AJ. Criptococosis en la República Argentina. Rev Arg Micol 1993; 16: 3-41.