

Artículo original

Diagnóstico inmunológico de las micosis sistémicas durante cinco años 2002-2006

Vera Reviákina*, Mercedes Panizo, Maribel Dolande, Sofía Selgrad

*Departamento de Micología. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"
Caracas, República Bolivariana de Venezuela*

Recibido 16 de agosto de 2007; aceptado 05 de octubre de 2007

Resumen: El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia diagnóstica de las micosis sistémicas en el Departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR) durante 5 años (2002-2006). Se revisaron retrospectivamente las historias micológicas en el período señalado y sólo se tomaron en cuenta los diagnósticos iniciales de las micosis detectadas, descartando los controles sucesivos. Las muestras (suero y líquido cefalorraquídeo) fueron procesadas por las técnicas de inmunodifusión doble y aglutinación con látex. De 7653 muestras, 409 (5,3%) resultaron positivas para el diagnóstico de micosis sistémicas. 39% (2990/7653) procedían de pacientes con VIH/SIDA, con 203/2990 (6,8%) casos positivos y 4663/7653 (61%) procedían de pacientes sin VIH/SIDA, con una positividad general de 4,4% (206/4663 casos). La histoplasmosis fue la micosis más frecuente en los pacientes con SIDA (67%), seguida de la criptococosis con 26,6%. La paracoccidioidomicosis se diagnosticó con mayor frecuencia en pacientes sin VIH/SIDA (54,4%), seguida de la histoplasmosis (32%) y la criptococosis (11,2%). La vigilancia epidemiológica de las micosis es esencial para fomentar los conocimientos sobre las mismas. El Departamento de Micología del INHRR funciona como centro de referencia para el diagnóstico micológico y realiza una parte importante de los estudios de estas enfermedades a escala nacional. La presentación de las revisiones de casuística en forma sistemática contribuye con el conocimiento de estas patologías en nuestro país.

Palabras clave: Inmunodiagnóstico, micosis sistémicas, histoplasmosis, paracoccidioidomicosis, coccidioidomicosis, aspergilosis, criptococosis, inmunodifusión, aglutinación con látex

Immunodiagnosis of systemic mycosis during a five-year period 2002-2006

Abstract: The purpose of this study was to determine the diagnostic frequency of systemic mycoses at the Mycology Department of the Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR) during a five-year period (2002-2006). Mycology case histories during the mentioned period were revised retrospectively and only the initial diagnoses of the mycoses detected were considered, discarding successive controls. Samples (serum and spinal fluid) were processed by double immunodiffusion and latex agglutination techniques. Of 7653 samples, 409 (5,3%) were positive for systemic mycoses. Thirty nine percent (2990/7653) came from HIV/AIDS patients, with 203/2990 (6,8%) positives, and 4663/7653 (61%) from non HIV/AIDS patients, with a 4,4% (206/4663) general positivity. Histoplasmosis was the most frequent mycosis in AIDS patients (67%), followed by cryptococcosis with 26,6%. Paracoccidioidomycosis was diagnosed more frequently in non HIV/AIDS patients (54,4%), followed by histoplasmosis (32%) and cryptococcosis (11,2%). Epidemiological surveillance of mycoses is essential to improve knowledge regarding them. The Mycology Department of the INHRR functions as a reference center for mycological diagnosis and performs an important part of these studies at a national scale. The systematic presentation of case revisions contributes to the knowledge of these pathologies in our country.

Key words: Immunodiagnosis, systemic mycoses, histoplasmosis, paracoccidioidomycosis, coccidioidomycosis, aspergilosis, cryptococcosis, immunodiffusion, latex agglutination

* Correspondencia:
E-mail: vera2@movistar.net.ve

Introducción

Las micosis profundas sistémicas se conocen en Venezuela desde el siglo pasado, cuando fueron descritas por primera vez gracias al esfuerzo de un grupo de médicos, pioneros en los estudios de estas enfermedades en nuestro país. La privilegiada posición geográfica y las condiciones climatológicas del trópico, en conjunto con la increíble biodiversidad, favorecen la presencia en los suelos venezolanos de la mayoría de los hongos dimorfos patógenos para los humanos [8]. La existencia de los nichos ecológicos de *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis* y *Coccidioides* spp. en el país, hace que las enfermedades producidas por estos microorganismos tengan carácter endémico [1-11].

Una característica común entre histoplasmosis, paracoccidioidomicosis y coccidioidomicosis, es la afectación primaria pulmonar de los individuos después de la inhalación de las partículas infectantes, con la posibilidad de diseminación posterior a otros órganos y sistemas. Las micosis sistémicas oportunistas como la criptococosis y aspergilosis también se diagnostican en Venezuela, ya que la naturaleza ubicua de sus agentes etiológicos permite su amplia distribución en el territorio nacional [8-11].

Las enfermedades bronco-pulmonares crónicas tienen especial atención en nuestro país a través del programa del Ministerio de Salud, dirigido a este grupo multifactorial de patologías (que pueden tener origen infeccioso, tumoral, alérgico y mixto, con múltiples agentes y causas), pero entre ellas no se consideran las enfermedades micóticas. En forma general, las micosis sistémicas no son de denuncia obligatoria y por esta razón no existen casuísticas oficiales, no solamente en Venezuela sino en otros países del continente [8,12].

Una de las dificultades que se presenta en el estudio de las micosis sistémicas es lo inherente a su diagnóstico, ya que con frecuencia no existen recursos suficientes para realizar exámenes de laboratorio y tampoco se cuenta con el personal calificado, sobre todo a nivel regional. En Venezuela los centros que cuentan con diagnóstico micológico, aparte de los del Distrito Capital, están confinados a los organismos dispensadores de salud regionales (tanto públicos como privados) o a los grupos de trabajo en micología, distribuidos en 8 estados del país, que no abarcan por completo todo el territorio nacional [9].

El estudio microbiológico de las micosis sistémicas es bastante complejo, ya que esta formado por un conjunto de procedimientos basados en la adecuada orientación clínico-epidemiológica, examen microscópico directo al fresco o por coloraciones de la muestra clínica bien recolectada, cultivo y aislamiento del agente etiológico, además del soporte inmunodiagnóstico. En todos los centros de salud no están dadas las condiciones para realizar los cultivos micológicos, y por esta razón las técnicas de inmunodiagnóstico deberían implementarse con mayor frecuencia. El uso de estas pruebas no debe ser ignorado en el estudio de las micosis sistémicas, debido a su gran utilidad para el diagnóstico, seguimiento y pronóstico de estas enfermedades [13-15].

El Departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR), funciona como centro de referencia nacional en diagnóstico micológico, donde se realizan cultivos y estudios serológicos para las micosis sistémicas endémicas y oportunistas. También cuenta con una consulta médica especializada, donde anualmente se atienden un promedio de 1000 pacientes. Las muestras referidas de todos los estados y de la zona metropolitana, así como las tomadas en el mismo departamento, representan un universo bastante amplio, que tiende a aumentar anualmente y oscila entre 1187 y 2083 muestras por año. Por lo tanto, en el departamento se realiza una parte importante de los diagnósticos micológicos a escala nacional, por lo que su casuística es muy representativa y ha sido publicada en forma sistemática, como un aporte al conocimiento de las micosis en Venezuela [16-20]. En esta entrega se presenta la casuística de las micosis sistémicas y nuestra experiencia utilizando las técnicas de inmunodiagnóstico durante los últimos 5 años (2002-2006).

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio retrospectivo, de corte transversal, de todas las historias micológicas de los pacientes que acudieron al Departamento de Micología del INHRR, para el diagnóstico de las micosis sistémicas, en un período de tiempo comprendido entre enero del año 2002 y diciembre del 2006. Se tomaron en cuenta sólo los diagnósticos primarios de las micosis (histoplasmosis, paracoccidioidomicosis, coccidioidomicosis, aspergilosis y criptococosis) y no de los controles sucesivos de la evolución de estas enfermedades. Las muestras procesadas fueron: suero y líquido cefalorraquídeo (LCR).

Las técnicas de diagnóstico utilizadas fueron:

Inmunodifusión doble en gel de agarosa: es una prueba que detecta anticuerpos circulantes en suero y LCR contra *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* y *Aspergillus* spp., basada en los principios de doble difusión descritos por Oudin [21] y Ouchterlony [22]. La prueba se realiza en forma cualitativa (con reporte de resultado positivo o negativo) y semicuantitativa solamente a las muestras con resultado positivo, para conocer la dilución de anticuerpos presentes (realizando diluciones dobles seriadas o titulación de las muestras, con solución salina fisiológica al 0,9% estéril). Los antígenos y antisueros son de la casa comercial YMMY® (Immuno-Mycologics, Inc) y se utilizaron siguiendo las instrucciones del fabricante. Los antígenos de *H. capsulatum* (H y M), *P. brasiliensis* (gp43) y *C. immitis* (IDCF e IDTP) provienen de la fase micelial de los hongos. El antígeno de *Aspergillus* spp., es un pool de filtrados de cultivos de *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*. Los antisueros contienen anticuerpos de cabra dirigidos contra cada uno de los antígenos mencionados anteriormente [23]. En este trabajo esta prueba se realizó sólo en las muestras de suero.

Aglutinación con látex: detecta la presencia del antígeno polisacárido capsular de *Cryptococcus neoformans*, en suero sanguíneo y LCR, mediante el uso de partículas látex

sensibilizadas con globulinas anticriptocóccicas de conejo; cuando estas partículas sensibilizadas entran en contacto con el antígeno se forma un complejo que causa la aglutinación. La prueba también se realiza en forma cualitativa (con reporte de resultado positivo o negativo) y semi-cuantitativa (realizando diluciones dobles seriadas de la muestra con resultado positivo, para conocer la dilución de antígenos presente). Los reactivos utilizados son de Laboratorios Wampole [24]. En este trabajo esta prueba se realizó sólo en las muestras de líquido cefalorraquídeo.

Los datos epidemiológicos, clínicos y de diagnóstico obtenidos, fueron incluidos en una base de datos computarizada y diseñada para tal fin. Posteriormente, se realizó un análisis estadístico descriptivo de las variables mediante el uso de medidas de tendencia central. Para el análisis estadístico, los datos fueron comparados utilizando la prueba U Mann-Whitney y la significancia estadística fue aceptada para valores de $p < 0.05$, con niveles de confianza del 95%, utilizando el programa Statgraphics 5.0.

Resultados

Se revisaron 7653 historias micológicas en un período de 5 años (2002-2006), encontrándose 409/7653 (5,3%) casos con diagnóstico positivo para alguna de las micosis sistémicas. Durante la revisión, 2990/7653 historias fueron

de pacientes con infección por Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), lo que representa un 39% del total de las historias estudiadas; de ellas, 203/2990 (6,8%) tuvieron diagnóstico positivo para micosis sistémicas. Las historias de los pacientes con otras patologías distintas al VIH/SIDA sumaron en su totalidad 4663/7653, con una positividad del 4,4% (206/4663 pacientes) para las micosis estudiadas. A todos los casos que presentaron prueba cualitativa positiva, se les realizó posteriormente inmunodifusión doble o aglutinación con látex en forma semi-cuantitativa con diluciones seriadas, para conocer su título final.

Entre los pacientes con diagnóstico de micosis sistémicas, 348/409 (85%) fueron hombres y 61/409 (15%) mujeres, con una edad promedio de $39,6 \pm 15,2$ años (rango entre 1 – 77 años) y una relación hombre/mujer de 6:1.

La edad promedio de los pacientes sin VIH/SIDA fue mayor al compararla con la de los pacientes VIH/SIDA ($42,5 \pm 18,1$ vs. $36,5 \pm 10,3$, respectivamente) y la diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Al comparar las edades entre los pacientes masculinos con y sin VIH/SIDA también se encontraron diferencias estadísticamente significativas, no así al comparar el grupo femenino.

Tabla 1. Incidencia de las Micosis Sistémicas (n=409 pacientes).

Micosis	Distribución general		Pacientes VIH/SIDA		Pacientes sin VIH/SIDA	
	Nº pacientes	%	Nº pacientes	%	Nº pacientes	%
Histoplasmosis	202	49,4	136	67	66	32
Paracoccidioidosis	124	30,3	12	6	112	54,4
Criptococosis	77	18,8	54	26,6	23	11,2
Aspergilosis	4	1,0	-	-	4	2
Coccidioidomicosis	2	0,5	1	0,5	1	0,5
Total	409		203		206	

La histoplasmosis, seguida de la paracoccidioidomicosis, fueron las micosis predominantes en el grupo total de los pacientes estudiados. En el grupo de pacientes VIH/SIDA, se mantiene el mismo predominio observado en el grupo general, pero se invierte en el grupo de pacientes sin VIH/SIDA, donde la paracoccidioidomicosis es la micosis más frecuente, seguida de la Histoplasmosis. En la Tabla 1 se resumen los datos sobre la distribución general de los diagnósticos de las micosis sistémicas y la estratificación de los mismos por grupo de pacientes estudiados. La incidencia de las micosis sistémicas por años en el grupo general y por grupo de pacientes se presenta en las Tablas 2, 3 y 4.

Al comparar la positividad del diagnóstico de micosis sistémicas entre los grupos de pacientes estudiados se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$); se encontró mayor cantidad de diagnósticos positivos en el grupo de pacientes sin VIH/SIDA. Al estra-

tificar la comparación por tipo de micosis y grupo de pacientes, los resultados fueron variables. Para la histoplasmosis, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los grupos de pacientes ($p > 0.05$). En el caso de la paracoccidioidomicosis, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), encontrándose mayor positividad en el grupo de pacientes sin VIH/SIDA. Para la criptococosis, también se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), con mayor cantidad de diagnósticos positivos en el grupo de pacientes con VIH/SIDA. No se realizó el estudio estadístico comparativo para coccidioidomicosis y aspergilosis debido al bajo número de pacientes con estas patologías.

Tratando de establecer la relación existente entre el sexo y el tipo de micosis, se determinó que los hombres fueron afectados en mayor proporción (85%).

Tabla 2. Incidencia de las micosis sistémicas por años (n=7653 pacientes).

Años	M	H n (%)	P n (%)	Cr n (%)	Co n (%)	A n (%)	TP n (%)
2002	1604	38 (53,5 %)	23 (32,4 %)	10 (14,1 %)	-	-	71 (19,4)
2003	1187	39 (44,8 %)	29 (33,3 %)	15 (17,2 %)	1 (1,1 %)	3 (3,5 %)	87 (21,3)
2004	1315	40 (45 %)	30 (33,7 %)	18 (20,2 %)	-	1 (1,1 %)	89 (21,8)
2005	1464	41 (51,3 %)	25 (30,0 %)	14 (17,5 %)	-	-	80 (19,6)
2006	2083	44 (53,6 %)	17 (20,7 %)	20 (24,4 %)	1 (1,2 %)	-	82 (20)
Total	7653	202 (49,4 %)	124 (30,3 %)	77 (18,8 %)	2 (0,4 %)	4 (1,0 %)	409

M: Muestras; H: Histoplasmosis; P: Paracoccidioidomicosis; Cr: Criptococosis; Co: Coccidioidomicosis; A: Aspergilosis; n: Número de pacientes; TP: Total muestras positivas.

Tabla 3. Incidencia de las micosis sistémicas por años en pacientes con VIH/SIDA (n=2990).

Años	M	H n (%)	P n (%)	Cr n (%)	Co n (%)	A n (%)	TP n (%)
2002	666	28 (73,7 %)	1 (2,6 %)	9 (23,7 %)	-	-	38 (18,7)
2003	476	28 (68,3 %)	3 (7,3 %)	10 (24,4 %)	-	-	41 (20,2)
2004	532	27 (73 %)	2 (5,4 %)	8 (21,6 %)	-	-	37 (18,2)
2005	526	22 (64,7 %)	2 (9,1 %)	10 (29,4 %)	-	-	34 (16,7)
2006	790	31 (58,5 %)	4 (7,5 %)	17 (32 %)	1 (2 %)	-	53 (26,1)
Total	2990	136 (67 %)	12 (6 %)	54 (26,6 %)	1 (0,5 %)	-	203

M: Muestras; H: Histoplasmosis; P: Paracoccidioidomicosis; Cr: Criptococosis; Co: Coccidioidomicosis; A: Aspergilosis; n: Número de pacientes; TP: Total muestras positivas.

Tabla 4. Incidencia de las micosis sistémicas por años en pacientes sin VIH/SIDA (n=4663).

Años	M	H n (%)	P n (%)	Cr n (%)	Co n (%)	A n (%)	TP n (%)
2002	938	10 (30,3 %)	22 (66,7 %)	1 (3 %)	-	-	33 (16)
2003	711	11 (24 %)	26 (56,5 %)	5 (11 %)	1 (2 %)	3 (6,5 %)	46 (22,3)
2004	783	13 (25 %)	28 (53,8 %)	10 (19,2 %)	-	1 (2 %)	52 (25,2)
2005	938	19 (41,3 %)	23 (50,0 %)	4 (8,7 %)	-	-	46 (22,3)
2006	1293	13 (44,8 %)	13 (44,8 %)	3 (10,3 %)	-	-	29 (14,1)
Total	4663	66 (32 %)	112 (54,4%)	23 (11,2 %)	1 (0,5 %)	4 (2 %)	206

M: Muestras; H: Histoplasmosis; P: Paracoccidioidomicosis; Cr: Criptococosis; Co: Coccidioidomicosis; A: Aspergilosis; n: Número de pacientes; TP: Total muestras positivas.

En las pruebas con resultado cualitativo positivo se determinó el porcentaje de pacientes que presentaron diluciones (en suero y LCR) de anticuerpos y antígenos con valores presuntivos y diagnósticos: 1:8, 1:16 y 1:32 para histoplasmosis y paracoccidioidomicosis y 1:4, 1:16 y 1:1024 para criptococosis. Las diluciones obtenidas en los pacientes con coccidioidomicosis (1:2) y aspergilosis (1:2 y 1:8) fueron muy bajas y para que tengan un valor presuntivo para el diagnóstico de estas micosis, deben ser analizadas junto a los datos clínicos del paciente, lo que no pudo ser realizado en nuestro estudio. En la Tabla 5 se presentan las diluciones en suero de anticuerpos por inmunodifusión doble contra *H. capsulatum* y *P. brasiliensis* y los porcentajes obtenidos según el grupo de pacientes y en

la Tabla 6 las diluciones en LCR de antígenos de *C. neoformans* por la prueba de aglutinación con látex.

Discusión

Este estudio señala nuevamente la importancia de realizar diagnóstico serológico de las micosis endémicas y oportunistas. Las pruebas utilizadas son de gran utilidad para la detección de la enfermedad y la evaluación de su pronóstico. Debido a que las enfermedades sistémicas no tienen características clínicas específicas, y los cultivos no siempre pueden realizarse, ya que requieren servicios especializados y tiempo prolongado, la detección de anticuerpos circulantes contra *Histoplasma capsulatum*, *Para-*

coccidioides brasiliensis, *Coccidioides* spp. y *Aspergillus* spp. se ha convertido en una alternativa diagnóstica. La detección del antígeno polisacárido capsular del *Crypto-*

coccus spp. sirve de soporte diagnóstico de la enfermedad y ayuda a monitorear la evolución del paciente durante el tratamiento.

Tabla 5. Titulación de anticuerpos contra *H. capsulatum* y *P. brasiliensis* por la técnica de Inmunodifusión doble según grupo de pacientes.

Dilución de suero (título)	Histoplasmosis			Paracoccidioidomicosis		
	Pacientes VIH/SIDA n (%)	Pacientes sin VIH/SIDA n (%)	Total n (%)	Pacientes VIH/SIDA n (%)	Pacientes sin VIH/SIDA n (%)	Total n (%)
≥ 1:8	98 (72)	44 (67)	142 (70,3)	10 (83,3)	87 (77,7)	97 (78,2)
≥ 1:16	74 (54,3)	33 (50)	107 (53,1)	6 (50)	59 (53)	65 (52)
≥ 1:32	61 (45)	28 (42,4)	89 (44,1)	6 (50)	50 (44,6)	56 (45,2)

Debido a que el Departamento de Micología del INHRR funciona como centro de referencia nacional, durante los últimos 10 años ha asumido el diagnóstico micológico de varios centros de salud del Distrito Capital y zonas aledañas, entre ellos el Hospital José Ignacio Baldó, Hospital General del Oeste, Hospital de Lídice, Hospital Periférico de Catia, Hospital Miguel Pérez Carreño, Hospital Domingo Luciani, Hospital Pediátrico Elías Toro, Hospital Victorino Santaella del estado Miranda, Hospital José María Vargas del estado Vargas y otros hospitales del Instituto Venezolano de los Seguros Sociales (IVSS), que no cuentan con un laboratorio especializado para el diagnóstico micológico en sus instalaciones. También se realiza diagnóstico para el programa estatal Barrio Adentro y, por la cercanía con el Hospital Clínico Universitario de Caracas, se realiza para este centro una parte importante del diagnóstico inmunológico de las micosis sistémicas.

Tabla 6. Titulación de antígenos contra *C. neoformans* por la técnica de aglutinación de látex según grupo de pacientes.

Dilución de LCR (título)	Criptococosis		
	Pacientes VIH/SIDA n (%)	Pacientes sin VIH/SIDA n (%)	Total n (%)
≥ 1:4	53 (98,2)	22 (96)	75 (98)
> 1:16	50 (92,6)	21 (91,3)	71 (92,2)
≥ 1:1024	36 (66,7)	14 (61)	50 (65)

Además, el departamento colabora con el estudio micológico de los pacientes provenientes de diferentes organizaciones no gubernamentales (ONG), como la Fundación "Daniela Chappard", "Ases de Venezuela", "Las Mujeres por el SIDA" y otras. Dada la proporción tan elevada de pacientes con infección por VIH/SIDA (39% del total) se determinó que la positividad general de las micosis sistémicas en este grupo es mayor que en los individuos con patologías de base diferentes al VIH/SIDA. Esta tendencia se conserva a través del tiempo y ha sido señalada en publicaciones anteriores [16-19].

Al tratar de establecer una comparación entre los resultados obtenidos en esta investigación con las casuísticas de los Grupos de Trabajo en Micología (GTM) venezolanos, solamente se pudo comparar la información de los años

2002-2003, debido a la ausencia de datos publicados por estos grupos para los años 2004-2006. La falta de estratificación de los pacientes estudiados (con o sin VIH/SIDA) en la casuística de los GTM nos impidió una mejor comparación con los datos obtenidos en nuestro estudio, por lo que sólo se pudo tomar en cuenta el número total de pacientes estudiados sin estratificación por enfermedad de base.

Los GTM en estos dos años (2002-2003) estudiaron 1591 pacientes, de los cuales 73/1591 (4,6%) fueron casos positivos, mientras que el Departamento de Micología del INHRR estudió 2791 pacientes, con 158/2791 (5,7%) casos positivos. Para los GTM, la paracoccidioidomicosis ocupa el primer lugar con 49,3% (36/73), seguida de la histoplasmosis con 39,7% (29/73), la criptococosis con 8,2% (6/73) y por último la coccidioidomicosis con 2,7% (2/73). Según la casuística del Departamento de Micología para los años 2002-2003, la histoplasmosis se encuentra en el primer lugar con 48,7% (77/158), seguida de la paracoccidioidomicosis con 32,9% (52/158), la criptococosis con 15,8% (25/158), la aspergilosis con 1,9% (3/158) y la coccidioidomicosis con 0,6% (1/158) [9].

Las diferencias entre ambas casuísticas estriban básicamente en que el Departamento de Micología del INHRR, al trabajar como centro de referencia nacional, maneja un volumen superior de pacientes provenientes de casi toda la geografía nacional (64% en los dos años estudiados), mientras que los GTM, ubicados en los estados Bolívar, Carabobo, Falcón, Lara, Zulia, Distrito Capital (adscritos a las universidades) y Monagas y Sucre (en instituciones hospitalarias), manejan un volumen de pacientes menor (36% en los dos años estudiados). Por otra parte, el gran número de pacientes con VIH/SIDA que acuden a nuestro servicio hace que se modifique la incidencia de las micosis profundas en nuestra casuística.

Al comparar nuestros resultados con los datos de otros países latinoamericanos, encontramos grandes diferencias. Un estudio argentino, realizado en un período de un año, evaluó por inmunodiagnóstico 965 muestras provenientes de pacientes con micosis endémicas y oportunistas. La paracoccidioidomicosis fue la micosis predominante (45,9%), seguida de histoplasmosis (15%), aspergilosis (30,8%) y coccidioidomicosis (8,3%). De 98 pacientes

(evaluados sólo por la técnica de inmunodifusión doble), 10 (10,2%) eran VIH/SIDA, 47 (48%) sin VIH/SIDA, 9 (9,2%) presentó otro tipo de inmunosupresión y en 32 (32,7%) no se reportó el estado inmune [12]. Un estudio brasileño, con una duración de 4 años, evaluó sueros de 6041 pacientes con sospecha clínica de histoplasmosis, paracoccidiodomicosis y aspergilosis por inmunodifusión doble, de los cuales 67% correspondieron a paracoccidiodomicosis, 19,4% histoplasmosis y 13,3% a aspergilosis [25]. En ambos países la paracoccidiodomicosis es la micosis endémica más frecuente, caso contrario ocurre en nuestro país, donde actualmente la histoplasmosis es la micosis endémica predominante.

Cobra mucha importancia la estratificación de los pacientes según el estado inmunológico, ya que la incidencia de las micosis varía notablemente. Según los resultados de este trabajo, entre los pacientes con VIH/SIDA, el diagnóstico de histoplasmosis ocupa el primer lugar con 67% y la criptococosis le sigue en segundo lugar con 26,6%, observando un aumento del porcentaje de histoplasmosis y una disminución del porcentaje de criptococosis con respecto al quinquenio anterior (50,4% y 42,5% respectivamente) [16,17]. En el grupo de pacientes sin VIH/SIDA, la paracoccidiodomicosis ocupa el primer lugar con 54,4%, seguida de la histoplasmosis con 32%, observando un aumento en el porcentaje de paracoccidiodomicosis y un descenso en el porcentaje de histoplasmosis con respecto al quinquenio anterior, donde ambas micosis presentaron porcentajes muy similares (47% y 44% respectivamente) [19]. El aumento en el diagnóstico de histoplasmosis y paracoccidiodomicosis está relacionado directamente con el aumento progresivo de solicitudes de diagnóstico serológico que ha experimentado el departamento de micología en los últimos 10 años para los dos grupos de pacientes estudiados, pero especialmente en pacientes con VIH/SIDA, donde la solicitud de esta prueba se ha hecho rutinaria [18,19]. En el grupo sin VIH/SIDA las micosis endémicas paracoccidiodomicosis e histoplasmosis son las más frecuentes, sin embargo, en el grupo VIH/SIDA, la segunda micosis más diagnosticada es la criptococosis, seguida de la paracoccidiodomicosis con un bajo porcentaje. El descenso en el porcentaje de criptococosis, en comparación con el quinquenio anterior probablemente está relacionado con el uso de la terapia antirretroviral altamente efectiva y estos resultados concuerdan con los reportados a nivel internacional [26].

La incidencia de coccidiodomicosis es muy baja y esto se debe básicamente al pequeño número de pacientes en nuestra casuística. En Venezuela el diagnóstico de esta patología también se realiza a nivel regional en las áreas endémicas (estados Lara, Falcón y Zulia) por los grupos de trabajo en micología, pero la incidencia sigue siendo baja, no superando el 5% [9].

En el caso de la aspergilosis, la incidencia en nuestra casuística también es baja, comparada con la reportada por otros países [12,25]. La prueba de inmunodifusión doble para la detección de anticuerpos circulantes en esta enfermedad tiene utilidad únicamente para detectar casos de aspergiloma y aspergilosis broncopulmonar alérgica [27].

Los 4 pacientes evaluados en nuestra investigación tenían diagnóstico previo de enfermedad pulmonar cavitaria, un factor predisponente para el desarrollo posterior de aspergiloma; los valores de las diluciones obtenidas fueron muy bajos y no pudieron ser comparados con las características clínicas de los pacientes por causas ajenas a nuestra voluntad. En otras publicaciones, no se especifica la forma clínica de la enfermedad, por lo tanto, no se pueden realizar comparaciones sobre la incidencia.

En relación a las comparaciones realizadas entre la presencia de micosis sistémicas y los grupos de pacientes, algunas investigaciones establecen diferencias estadísticamente significativas al comparar la positividad de la prueba de inmunodifusión doble para detectar anticuerpos circulantes contra *H. capsulatum* entre pacientes con y sin VIH/SIDA, encontrando mayor detección de anticuerpos en los pacientes sin VIH/SIDA [28-30]. En nuestro estudio no se encontraron estas diferencias en relación a la histoplasmosis; aunque la detección de anticuerpos fue mayor en los pacientes sin VIH/SIDA, las diferencias con el grupo VIH/SIDA no fueron significativas. Caso contrario ocurrió con la paracoccidiodomicosis, donde se encontró mayor detección de anticuerpos en el grupo de pacientes sin VIH/SIDA al compararlos con el grupo VIH/SIDA.

Las técnicas serológicas basadas en la detección de anticuerpos dependen del buen funcionamiento de la respuesta humoral, por lo que generalmente darán buenos resultados en pacientes inmunocompetentes. Sin embargo, estas pruebas mejoran su sensibilidad y especificidad al utilizar antígenos purificados y bien estandarizados [31]. En pacientes con VIH/SIDA, la inmunidad celular es la más afectada, mientras que la inmunidad humoral se deteriora cuando la enfermedad se encuentra en etapas avanzadas. En nuestra experiencia con la técnica de inmunodifusión doble en gel (IDD), independientemente del estado inmune del paciente, la utilización de antígenos de elevada calidad, así como la realización de diluciones para obtener un valor presuntivo o diagnóstico de la enfermedad, ha hecho que esta prueba se convierta en una herramienta indispensable y valiosa para el diagnóstico de las micosis endémicas. A pesar de que se considera que la paracoccidiodomicosis es rara en pacientes con VIH/SIDA y que la prueba de IDD no tiene utilidad para la detección de anticuerpos circulantes contra este hongo, una prueba positiva en estos pacientes, aún cuando el valor de dilución en suero obtenido sea bajo, es indicativo de infección [31,32].

En el diagnóstico de la criptococosis, la prueba de aglutinación con látex detecta antígenos circulantes, por lo tanto, no se ve influenciada por la respuesta humoral del paciente. En nuestro estudio, se obtuvieron diferencias significativas, detectándose mayor cantidad de casos de criptococosis en pacientes VIH/SIDA, al compararlos con el grupo sin esta enfermedad. La detección del antígeno polisacárido capsular es la prueba recomendada para el diagnóstico de criptococosis meníngea, no sólo debido a su elevada sensibilidad y especificidad, sino a su sencillez y rapidez [27,31].

El sexo es un factor predisponente para padecer una micosis, tal y como lo demuestra nuestra investigación. Un

estudio argentino reportó las siguientes relaciones hombre/mujer: 8:1 para histoplasmosis, 4:1 en paracoccidiodomicosis y 1:1 en coccidiodomicosis [12]. Aunque estos resultados muestran la misma tendencia que los obtenidos en este estudio, es importante destacar que en la paracoccidiodomicosis, la cantidad de diagnósticos realizados en los hombres supera ampliamente los realizados en las mujeres, con una relación 13:1. Aunque aparentemente para las micosis oportunistas el sexo no pareciera ser un factor predisponente, en estas también se observa el predominio masculino.

Es muy importante la interpretación de los resultados cuantitativos de las pruebas serológicas, ya que los valores de las diluciones de suero o LCR obtenidas pueden ser presuntivos o diagnósticos de la presencia de la enfermedad. En el caso de histoplasmosis, diluciones entre 1:8 y 1:16 tienen un valor presuntivo, pero deben ser tomadas en cuenta ya que se han reportado casos clínicos de presencia de la enfermedad con estas diluciones. Por otra parte, diluciones iguales o mayores a 1:32 son diagnósticas de histoplasmosis activa. En paracoccidiodomicosis, los valores de las diluciones para la interpretación del diagnóstico son los mismos que para la histoplasmosis, aunque otros autores afirman que cualquier valor positivo obtenido, aún cuando las diluciones sean bajas, es indicativo de la infección y nuestra experiencia con la técnica de IDD avala esta afirmación [13-15,33,34]. Para la coccidiodomicosis, las diluciones a partir de 1:16 se correlacionan con la gravedad de la enfermedad [13-15]. En el caso de la aspergilosis, las pruebas serológicas como la IDD son fundamentales para confirmar un cuadro de aspergiloma o de aspergilosis broncopulmonar alérgica, siempre que los resultados, aún cuando las diluciones obtenidas sean bajas, puedan ser comparados con la sintomatología del paciente. No es una prueba recomendada para el diagnóstico de aspergilosis invasiva, ya que los resultados obtenidos generalmente son negativos; pueden ser positivos sólo si el diagnóstico se realiza en forma tardía y las diluciones obtenidas son bajas [13,14,27]. Para la criptococosis, cualquier resultado obtenido debe ser correlacionado con los hallazgos clínicos que presente el paciente. Una dilución de 1:4 en adelante es indicativa de la presencia de meningitis criptocócica, particularmente en pacientes inmunocomprometidos; títulos antigénicos iguales o mayores a 1:1024 son considerados de mal pronóstico para el paciente [15,35]. En nuestra experiencia utilizando la prueba de aglutinación con látex para el diagnóstico de criptococosis meníngea, hemos observado que a diluciones de LCR menores o iguales a 1:16, la prueba es positiva mientras que no se observan levaduras encapsuladas al realizar la observación microscópica con tinta china (datos no publicados). Esta afirmación es compartida por los resultados obtenidos por otros autores, quienes aseveran que el examen directo no se correlaciona con los títulos antigénicos obtenidos, aunque no reportan a partir de qué dilución se presenta este fenómeno. Por otra parte, el examen directo y el cultivo pueden tener resultados que no se correlacionan entre sí, de allí la importancia del uso de la prueba de aglutinación con látex para la detección de la enfermedad [34].

De acuerdo a los diagnósticos realizados para histoplasmosis y paracoccidiodomicosis por IDD en nuestro estudio, la mayoría de los pacientes presentaron títulos presuntivos y diagnósticos para ambas enfermedades. Para histoplasmosis, en 142 pacientes (70,3%) se detectaron anticuerpos circulantes en diluciones de suero mayores o iguales a 1:8, mientras que 89 (44,1%) tuvieron diluciones mayores o iguales a 1:32. En el caso de paracoccidiodomicosis, en 97 pacientes (78,2%) se detectaron anticuerpos circulantes con diluciones \geq 1:8 y 56 (45,2%) presentaron diluciones \geq 1:32, lo que demuestra la utilidad de esta prueba en el diagnóstico de la enfermedad. Para el diagnóstico de criptococosis, se detectaron antígenos capsulares en 75 pacientes (98%) con diluciones de LCR iguales o superiores a 1:4, y de ellos, 50 (65%) pacientes tuvieron diluciones superiores a 1:1024, indicativas de mal pronóstico para los mismos.

Conclusiones

La prueba de IDD y la aglutinación con látex son los procedimientos serológicos más importantes para el diagnóstico de las micosis sistémicas, pues sirven como soporte para el diagnóstico y monitoreo de la evolución y posterior seguimiento del tratamiento de los pacientes.

La aplicación exitosa de las pruebas serológicas depende de los reactivos empleados, que deben ser de alta pureza y contar con un estricto control de calidad, lo que conducirá a la obtención de reacciones antígeno-anticuerpo más sensibles y específicas.

Se observó una tendencia general hacia el incremento en el diagnóstico de las micosis sistémicas a través de los años estudiados, debido al aumento de la población inmunosuprimida y, en especial, de los pacientes con SIDA.

Es recomendable establecer un programa de vigilancia epidemiológica de las micosis profundas en Venezuela. Estas enfermedades deberían ser consideradas como de denuncia obligatoria, particularmente la histoplasmosis, paracoccidiodomicosis y la criptococosis. De no ser así este problema nunca podrá ser estudiado en su dimensión real y permanecerá subregistrado.

Referencias

1. Campins H. Bosquejo de la Micología Médica en Venezuela. V Conferencia Panamericana sobre las Micosis. Libro de resúmenes. 1980.
2. Briceño Maas T, Albornoz M, San-Blas G. Breve historia de la micología médica en Venezuela. Rev Iberoam Micol 1994; 11: 54-5.
3. Campins H y Scharij M. Investigación de la sensibilidad cutánea a la histoplasmina en Venezuela. Arch Venez Pat Trop Parasitol Med 1950; 2: 50.
4. Borelli D. Concepto de Reservárea. La reducida reservárea de la paracoccidiodosis. Dermat Venez 1964; 4: 71-7.
5. Borelli D. Reservárea de algunos agentes de micosis. Med Cut 1979; 4: 367-9.
6. Baldó J. El estudio de las micosis en escala nacional. Rev Acta Med Venez 1958; 5: 101-3.

7. Gaceta Oficial de la Republica de Venezuela. Resolución por la cual se crea un Comité Técnico Asesor para el estudio de las Micosis en el campo de la Salud Pública. 24 de Mayo de 1991. N° 344.
8. Albornoz, M. Temas de Micología Médica. Editor: María C. B de Albornoz. Litografía Tipografía ELALCA s.r.l. Caracas-Venezuela. 1996.
9. Grupos de Trabajo en Micología. Casuística de las micosis profundas. Boletín Informativo Las Micosis en Venezuela 2004-2005; 37-38: 5-8.
10. Saubolle MA, McKellar PP, Sussland D. Epidemiologic, clinical and diagnostic aspects of coccidioidomycosis. J Clin Microbiol 2007; 45: 26-30.
11. Tintelnot K, De Hoog GS, Antweiler E, Losert H, Seibold M, Brandt MA, Gerrits Van Den Ende AHG, Fisher MC. Taxonomic and diagnostic markers for identification of *Coccidioides immitis* and *Coccidioides posadasii*. Med Mycol 2007; 45: 385-93.
12. Canteros CE, Rivas MC, Soria M, Lee W, Perrotta D, Rodero L, Davel G, Grupo EMMB. Inmunodiagnóstico de micosis endémicas y aspergilosis broncopulmonar: Estudio multicéntrico en la República Argentina. Rev Arg Microbiol 2004; 36: 68-74.
13. Torres-Rodríguez JM, del Palacio-Hernanz A, Guarro-Artigas J, Negroni-Briz R, Pereiro-Miguens M. Micología Médica. 1° Edición. Masson, S.A. Barcelona, España, 1993.
14. Costa Sidrim JJ, Gadelha Rocha MF. Micología Médica a luz de autores contemporáneos. 1° Edición. Guanabara Koogan S.A. Río de Janeiro, Brasil, 2004.
15. Dismukes WE, Pappas PG, Sobel JD. Clinical Mycology. 1° Edición. Oxford University Press, Inc. New York, USA, 2003.
16. Reviákina V, Dolande M, Bukonja A, Maldonado B. Micosis profundas sistémicas: Casuística del Departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene durante 17 años (1980-1996). Bol Venez Infectol 1997; 7(1): 14-5.
17. Dolande M, Reviákina V, Bukonja A, Maldonado B. Inmunodiagnóstico de las micosis sistémicas en pacientes con Virus de Inmunodeficiencia Humana. Bol Venez Infectol 1999; 9(1): 1-4.
18. Dolande M, Reviákina V, Panizo M, Maldonado B. Diagnóstico inmunológico de las micosis sistémicas en pacientes con SIDA (1997-2001). Rev Soc Ven Microbiol 2002; 22(1): 51-6.
19. Reviákina V, Panizo M, Dolande M, Maldonado B. Micosis profundas sistémicas: Casuística del Departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" durante 5 años (1997-2001). Rev Soc Ven Microbiol 2002; 22(2): 164-8.
20. Panizo MM, Dolande M, Reviákina V, Maldonado B. Histoplasmosis pulmonar aguda. Estudio de un brote epidémico y revisión de la literatura. Rev Soc Ven Microbiol 2001; 21(1): 30-5.
21. Oudin J. L'analyse immunochimique qualitative. Methode par diffusion des antigenes au sein de l'immunsérum precipitant gelosa. Premiere parte. Ann Inst Pasteur 1948; 75: 30-52.
22. Ouchterlony O. Handbook of immunodiffusion and immunoelectrophoresis. Ann Arbor Publishers, Inc. Ann Arbor, 1968.
23. Fungal antigens, positive controls, and immunodiffusion plates for use in the immunodiffusion (ID) test. Immuno-Mycologics, Inc. Disponible en: www.immy.com.
24. Crypto-LA® Test. Latex agglutination test for the qualitative and quantitative detection of *Cryptococcus neoformans* antigen in serum or cerebrospinal fluid. Wampole Laboratories.
25. Franco DL, Carvalho-Vivi JO, Zamboni IM, Barreto LC, Da Silva DF, Oliveira LE, Assis CM, Vicentini AP. Prevalence analysis of systemic and opportunistic mycoses diagnosed in Adolfo Lutz Institute. "IX International Meeting on Paracoccidioidomycosis". Brasil. Immunological diagnosis posters section: N° 03.001. Rev Inst Med Trop S Paulo 2005; 47 (suppl. 14): 32.
26. Warnock DW. Trends in the epidemiology of invasive fungal infections. Jpn J Med Mycol 2007; 48: 1-12.
27. Gadea I, Cuenca-Estrella M. y col. Recomendaciones para el diagnóstico micológico y estudios de sensibilidad a los antifúngicos. Enferm Infecc Microbiol Clin 2004; 22(1): 32-9.
28. Tobón AM, Agudelo CA, Rosero DS, Ochoa JE, De Bedout C, Zuluaga A, Arango M, Cano LE, Sanpedro J, Restrepo A. Disseminated histoplasmosis: a comparative study between patients with acquired immunodeficiency syndrome and non-human immunodeficiency virus-infected individuals. Am J Trop Med Hyg 2005; 73(3): 576-82.
29. Wheat LJ. Current diagnosis of histoplasmosis. Trends Microbiol 2003; 11: 488-95.
30. Quinet Leimann BC, Vera Pizzini C, Medeiros Muniz M, Carvalho Albuquerque P, Fialho Monteiro PC, Santos Reis R, Almeida-Paes R, Santos Lázera M, Wanke B, Andrade Pérez M, Zancopé-Oliveira RM. Histoplasmosis in a brazilian center: clinical forms and laboratory tests. Rev Iberoam Micol 2005; 22: 141-6.
31. Pontón J. Diagnóstico microbiológico de las micosis. Rev Iberoam Micol 2002; 19: 25-9.
32. Hamilton AJ. Serodiagnosis of histoplasmosis, paracoccidioidomycosis and penicilliosis marneffeii: current status and future trends. Med Micol 1998; 36(6): 351-64.
33. Pires de Camargo Z, Fabiano de Franco M. Current knowledge on pathogenesis and immunodiagnosis of paracoccidioidomycosis. Rev Iberoam Micol 2000; 17: 41-8.
34. Guimarães AJ, Nosanchuk JD, Zancopé-Oliveira RM. Diagnosis of histoplasmosis. Braz J Microbiol 2006; 37: 1-13.
35. Pappalardo M, Melhem M. Cryptococcosis: a review of the brazilian experience for the disease. Rev Inst Med Trop S Paulo 2003; 45(6): 299-305.