



Fundación JL Castaño
SEQC

SEQC^{ML}

Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2018-2019

CASOS CLÍNICOS DE MICROBIOLOGÍA

Ed. Cont. Lab. Clin 42: 18 - 26

PACIENTE DE ORIGEN HINDÚ, CON NÓDULOS SUBCUTÁNEOS.

Miguel Ángel Benítez Merelo.

Consorci del Laboratori Intercomarcal de l'Alt Penedès, l'Anoia i el Garraf.

Alba Cebollero Agustí.

Consorci del Laboratori Intercomarcal de l'Alt Penedès, l'Anoia i el Garraf.

EXPOSICIÓN DEL CASO

Varón de 39 años natural de la India, residente en España hace 8 años (hace 4 años que no viaja a su país de origen), que acude a urgencias por cuadro de tos persistente, con sensación distérmica y sudoración vespertina, sin pérdida de peso. Como antecedentes de posible interés indicar que el paciente es cocinero, y que dos años antes se visitó en consultas externas de reumatología por dolores en cintura escapular, con limitación mecánica, con analítica de anticuerpos de enfermedades reumáticas negativa. En ese contexto se le diagnosticó de polimialgias seronegativas y recibió durante varios meses tratamiento con corticoides.

El contexto clínico-epidemiológico y las pruebas radiológicas realizadas (tac toraco-abdominal y Rx tórax) plantearon como principal orientación diagnóstica tuberculosis diseminada versus cuadro linfoproliferativo. Se cursaron estudios para cultivos bacteriológicos, micológicos y micobacteriológicos. Las muestras respiratorias también fueron estudiadas para citología en Anatomía Patológica, resultando repetidamente negativas.

Todos los estudios de microbiología resultaron negativos. Pese a la negatividad de los cultivos para micobacterias, se decide dos meses después iniciar tratamiento específico frente a la tuberculosis. En visitas de seguimiento para valorar el cumplimiento y la tolerancia del tratamiento, se decidió realizar TAC toraco-abdominal de control para ver la evolución de la enfermedad.

El paciente refiere mejoría subjetiva de los síntomas, con una tos más autolimitada, y sin sudoración vespertina ni sensación distérmica. Como novedad en la exploración presenta

zona indurada, dolorosa a la palpación, en región anterior del octavo arco costal izquierdo. Tras dos meses de tratamiento frente a la tuberculosis, la tolerancia es buena.

Se realiza TC torácico desde vértices pulmonares hasta áreas suprarrenales tras la administración de un bolus de contraste endovenoso y se compara con la TC previa. Se aprecian múltiples adenopatías axilares, mediastínicas e hiliares, de entidad similar a la TC previa, de 15-16 mm de eje corto las de mayor tamaño. También hay ganglios prominentes retroperitoneales parcialmente incluidos en el estudio, sin cambios significativos. Consolidación de 4 cm en segmento anterior basal del LII (donde en la TC previa había una lesión de 15 mm). Escasos micronódulos en parénquima pulmonar bilateral, sin cambios significativos. Múltiples lesiones hipodensas en bazo, de entidad algo mayor. Lesión expansiva de 25 x 15 mm, que rompe las corticales y con discreto componente de partes blandas asociado, localizada en 8º arco costal medio/anterior izquierdo, no presente en la TC previa.

CONCLUSIONES: Lesión expansiva en 8º arco costal izquierdo de nueva aparición, consolidación en LII y lesiones esplénicas de entidad algo mayor, todo ello como progresión de la enfermedad de base del paciente (TBC). Adenopatías en los territorios descritos sin cambios significativos.

EVOLUCIÓN DEL CASO

Ante la evolución radiológica del caso se decide ingreso, y biopsiar adenopatía laterocervical y pedir analítica complementada con marcadores tumorales y determinación de IGRAS. Durante los días de ingreso el paciente presenta febrícula termometrada, llegando incluso a 38,3°C que remite con antipiréticos convencionales.

Los hemocultivos cursados, los marcadores tumorales y la determinación de IGRAS son negativos. En la analítica general destacar únicamente un valor de proteína C reactiva de 4,86 mg/dL (Valor normal <0.30 mg/dL). De la biopsia latero-cervical se informa de la presencia de adenitis granulomatosa no caseificante compatible con SARCOIDOSIS, por lo que se instauro tratamiento con corticoides y se le retira el tratamiento antimicrobacteriano.

Cinco meses después, el paciente consulta por 4 nódulos contiguos en región torácica izquierda con superficie de piel hiperpigmentada con bocas de drenaje, una abierta que supura material purulento. Los mismos coinciden con la lesión que se vio en el TC de tórax (Lesión expansiva de 25 x 15 mm, que rompe las corticales y con discreto componente de partes blandas asociado, localizada en 8º arco costal medio/anterior izquierdo). El paciente tiene una fotografía donde muestra un abombamiento previo en la zona que posteriormente se ha abierto y drenado al exterior. La sarcoidosis es infrecuente que produzca lesiones expansivas con ruptura ósea y drenaje de material purulento al exterior, por lo que se vuelve a realizar biopsia de piel y a tomar cultivo de pus y de TEJIDO (biopsia) para descartar microorganismos poco frecuentes.

El servicio de microbiología informa de los resultados de dichos cultivos. En ambas muestras se aísla en cultivo puro *Cryptococcus neoformans*. Se cursan hemocultivos siendo negativos para bacterias y levaduras. En el estudio del antígeno de Criptococo en sangre se informa de un título de 1/16. El servicio de medicina interna le diagnostica de criptococosis cutánea en el contexto de un paciente con sarcoidosis y con toma prolongada en el tiempo de corticoides.

Se instaura tratamiento específico con Fluconazol 400 mg v.o cada 24 horas durante 6 meses. Al finalizar el tratamiento, la evolución de la lesión costal es buena, con una lesión mínima residual, y con la negativización del antígeno en sangre. La evolución de las adenopatías generalizadas en el contexto de la sarcoidosis también tuvieron una buena evolución clínica y radiológica.

BIBLIOGRAFÍA

Estrella Martín, Ana Isabel Aller. Aspectos microbiológicos de la criptococosis en la era post-TARGA. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010;28(Supl 1):40-45

Estrella Martín, Anastasio Valverde. Criptococosis: Diagnóstico microbiológico y estudio de la sensibilidad in vitro. Control Calidad de la SEIMC Disponible: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/micologia/cripto.pdf>

María Teresa Baró Tomás, (2002) Epidemiología de la criptococosis en España. Caracterización de los aislados de *Cryptococcus neoformans* (tesis doctoral). Universidad Autónoma de Barcelona, España.

Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de sensibilidad a los antifúngicos. Procedimientos en Microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (2006). Disponible: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia21.pdf>

Diagnóstico microbiológico de las infecciones del sistema nervioso central. Procedimientos en Microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (2010). Disponible: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia36.pdf>

Adriana Barbosa-Zamora, Perla de la Herrán-Millán, Alexandro Bonifaz. Criptococosis cutánea: una revisión. *Dermatología CMQ*2016;14(4):330-340

Igor Vázquez, Sara García, Marta Rodríguez et al. Criptococosis cutánea primaria en paciente inmunocompetente. *Dermatology Online Journal* 2016; 22 (5): 11

Bernard C et al. Cryptococcosis in sarcoidosis: cryptOsarc, a comparative study of 18 cases. Q J Med 2013; 106:523–539 - doi:10.1093/qjmed/hct052

Edward Mpoza, Joshua Rhein, Masha Abassi. Emerging fluconazole resistance: Implications for the management of cryptococcal meningitis. Medical Mycology Case Reports 19 (2018) 30–32

GRUPO DE TRABAJO DE MICROBIOLOGÍA

Miguel Ángel Benítez (*Presidente*), Alba Cebollero, María Elena Gómez, Antonio Guzmán, Julia Liró, María López, Matilde Palanca, María de Toro.

ACTIVIDADES FORMATIVAS DEL COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi, N. Giménez, A. Merino, A. Peña, N. Rico (*Presidenta*), M. Rodríguez, T. Rodríguez, P. Rodríguez, C. Sánchez, M. Serrando, MC. Villà, JA. Wong.

ISBN 978-84-09-02922-8 – Marzo 2019 (recibido para publicación Junio 2018)

RESOLUCION DEL CASO

A colación del caso clínico expuesto, se quiere mostrar la necesidad de tener en cuenta etiologías infecciosas menos frecuentes, sobre todo desde la instauración de los actuales tratamientos para los pacientes infectados por el VIH. Pese a que determinadas entidades han disminuido de forma drástica en las últimas décadas dado el control de estos pacientes, eso no tiene que llevar consigo que las olvidemos ante la presentación de determinados cuadros clínicos poco frecuentes.

La criptococosis es una infección oportunista de distribución mundial que afecta a los animales y humanos, que está causada por levaduras encapsuladas del género *Cryptococcus*. Fue descubierta en 1894 por Sanfelice, a partir del zumo de un melocotón fermentado, aunque el hábitat más frecuente son las heces de paloma. Las especies que se han aislado en humanos son *C. neoformans* y *gatti*. La variedad *neoformans* es de distribución mundial y se relaciona más frecuentemente con pacientes inmunodeprimidos, mientras que la variedad *gatti* puede afectar a pacientes con inmunidad celular normal y se relaciona con la presencia de determinadas especies de árboles (eucaliptos).

Puede infectar a personas sanas, pero afecta sobre todo a aquellas con algún grado de inmunosupresión o con enfermedades debilitantes (neoplasias, enfermedades autoinmunes, sarcoidosis, diabetes, etc) trasplantados o pacientes tratados con corticoides que disminuyen su capacidad de respuesta. El factor de riesgo más frecuente es estar infectado por el VIH. Hasta la aparición de la epidemia del SIDA, se trataba de una micosis de baja frecuencia. A partir de la década de los 90, gracias a la aparición de los azoles como tratamiento específico antimicótico, y posteriormente a la aparición de los nuevos tratamientos antirretrovirales de gran actividad (TARGA), la incidencia volvió a disminuir en los países desarrollados. En España esta disminución fue del 47,8% (0,67 casos/millón de habitantes en 1996 a 0,36 casos/millón de habitantes en 1998).

A pesar de que las heces de paloma son la fuente más importante de infección, estos animales no padecen la enfermedad y la adquisición en el hombre es por vía respiratoria. No se han descrito casos de transmisión aérea persona a persona, pero sí a través de los órganos trasplantados. Tampoco se conocen casos de transmisión directa de los animales al hombre.

Los sistemas afectados con más frecuencia son el respiratorio y el sistema nervioso central. La afectación pulmonar no presenta signos y síntomas específicos, siendo en muchos casos asintomática. Puede producir fiebre, tos, disnea, dolor pleurítico y pérdida de peso, síntomas indiferenciables de cualquier proceso infeccioso causante de neumonía. En función del grado de supresión del paciente infectado, la presentación radiológica puede asemejar a una neumonía convencional, hasta incluso asemejarse a una tuberculosis miliar diseminada.

La afectación del SNC es la que se diagnostica con más frecuencia y es la que acarrea mayor mortalidad. Su cuadro más frecuente es el de meningitis, aunque puede haber casos de meningoencefalitis y procesos expansivos pseudotumorales por criptocomas.

En la meningitis criptocócica, predomina la cefalea y son menos evidentes los signos de rigidez de nuca. Clínicamente puede haber trastornos de conciencia y afectaciones psiquiátricas.

En la afectación del SNC, destacar que el aspecto del LCR es frecuentemente claro, con discreta hiperproteínorraquia, y disminución de la glucosa. Las células encontradas suelen tener predominio linfocitario, aunque están descritos LCR purulentos con predominio de polimorfonucleares.

Meningitis	Leucocitos (células/mm ³)	Tipo de leucocitos	Glucosa (mg/dl)	Proteínas (mg/dl)
Vírica	50-100	Mononucleares	>45	<200
Bacteriana	1000-5000	Polimorfonucleares	<40	100-500
Tuberculosa	50-300	Mononucleares	<45	50-300
Criptocócica	20-400	Mononucleares	<40	>45

Tabla 1: Hallazgos citoquímicos en LCR de meningitis infecciosa. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del sistema nervioso central. Procedimientos de la SEIMC (2010).

La afectación cutánea, como el caso clínico descrito, puede ser primaria, mucho menos frecuente, o secundaria a una infección diseminada, ocurriendo esta afectación cutánea en un 10% de los casos. En el contexto de una infección diseminada, las lesiones suelen ser múltiples, formando pápulas, pústulas, vesículas o abscesos que se ulceran con el paso del tiempo. En el caso de afectación cutánea primaria, la lesión suele ser única y no se relaciona con la detección de antígeno en suero.

En referencia a la relación entre la criptococosis y la sarcoidosis, son numerosas las citas que relacionan ambas entidades, y son dos los factores implicados en incrementar el riesgo de criptococosis en esta patología: la toma frecuente de corticoides como tratamiento de base y la inmunodeficiencia celular producida en la sarcoidosis. La inmunidad de las células T es la vía predominante para la protección contra la infección criptocócica. En pacientes con sarcoidosis, se ha demostrado que la inmunidad mediada por linfocitos T está alterada, lo que podría explicarse por una combinación de secuestro de linfocitos T CD4 en granulomas y proliferación de la respuesta de los linfocitos T supresores.

Tratamiento

El tratamiento de meningoencefalitis se realiza en tres fases: 1. Tratamiento de inducción con anfotericina B liposomal junto con flucitosina durante 2 semanas, 2. Tratamiento de consolidación con fluconazol 400-800 mg al día durante 8 semanas y 3. Tratamiento de mantenimiento con fluconazol 200-400 mg al día durante un año. Las formas localizadas (cutánea, osteoarticular, etc) se tratan con fluconazol 400 mg al día durante 6-12 meses.

Diagnóstico del laboratorio

El diagnóstico se basa en poner en evidencia la levadura por examen directo, estudio histopatológico, cultivos o pruebas serológicas.

El examen directo clásico se realiza mediante la tinción de tinta china (Figura 1), mezclando una gota del sedimento del líquido con una gota de tinta china, y se observa la levadura con un halo alrededor no teñido, correspondiente a la cápsula.

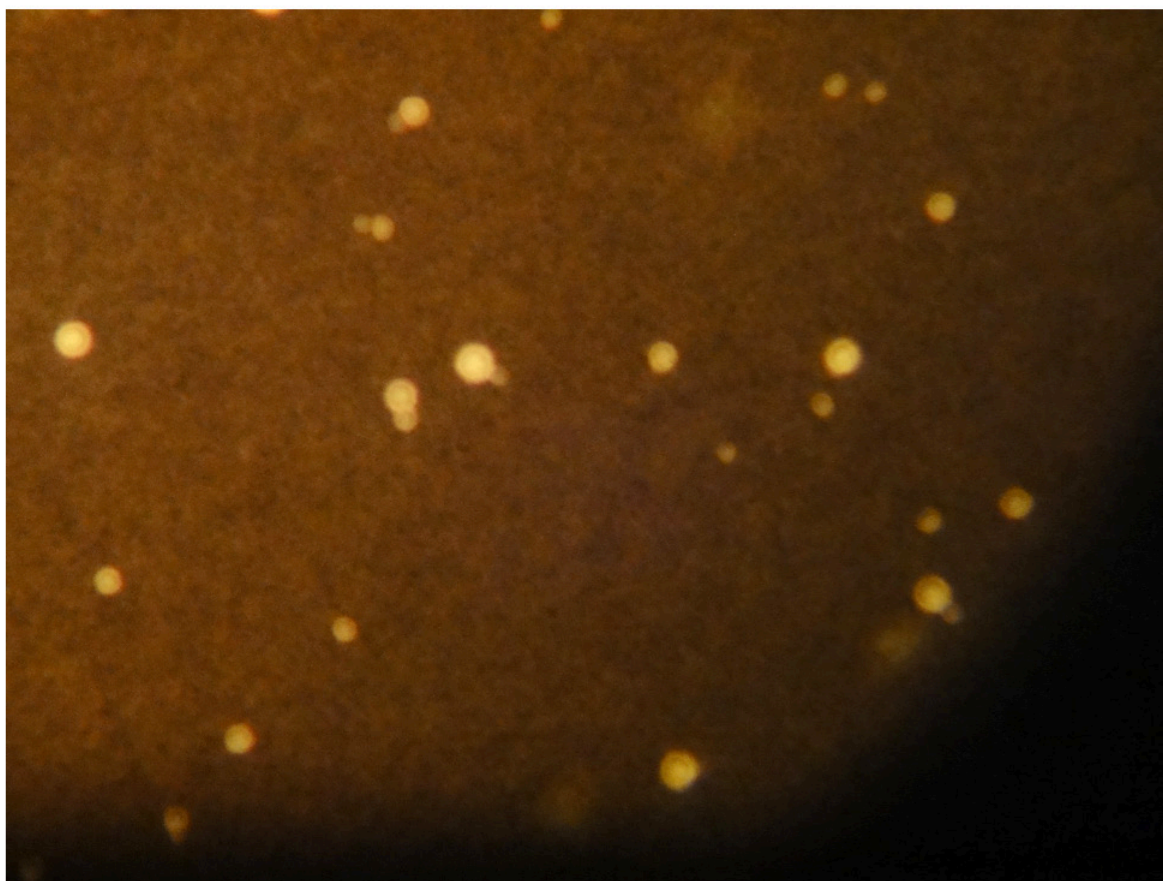


Figura 1: Tinta china.

En relación a su aislamiento, crece muy bien en todos los medios de cultivo formando colonias mucosas (Figura 2), aunque con el tiempo pueden aparecer secas; el color es muy variable (crema, ocre, rosa, amarillo), virando a tonos más oscuros con la edad. Las cepas que poseen una cápsula muy pequeña, forman colonias similares a las del género *Candida*. Tienen metabolismo aerobio, por lo que no son fermentadoras, producen ureasa y utilizan varios hidratos de carbono. Las distintas especies de criptococo se diferencian entre sí por una serie de características: crecimiento a 37° C, asimilación de la sacarosa, lactosa, galactosa, melobiosa, celobiosa, rafinosa, trealosa y dulcitol, utilización de KNO₃ y producción de ureasa y fenil-oxidasa. En sospecha de infección criptocócica, no utilizar medio con cicloheximida (actidiona), ya que inhibe el crecimiento de la levadura. La variedad neoformans crece bien en medios convencionales como agar sangre, chocolate o hemocultivos convencionales.



Figura 2: Aspecto de la colonia de *Cryptococcus neoformans* en Agar chocolate tras 72 h.

El 99% de las cepas tienen actividad ureásica rápida, a los 15 minutos. Las dos variedades conocidas de *Cryptococcus*, *neoformans* y *gatti*, tienen características morfológicas, bioquímicas y serológicas diferentes. La presencia de cápsula dota a las colonias de un aspecto mucoso, con un color amarillento típico. La variedad *neoformans*, la más frecuente, crece mejor a 37°C, mientras que la *gatti*, obtiene su crecimiento óptimo a 32°C.

La identificación definitiva, fuera de la clásica mediante procedimientos convencionales puede realizarse mediante diferentes galerías comerciales de pruebas basadas en la asimilación de azúcares. En la actualidad, el método que cada vez se impone más en laboratorios de tercer nivel, o dotados con la última tecnología, es la identificación mediante espectrometría de masas (MALDI-TOF) obteniéndose un alto porcentaje de identificación, especialmente en la variedad *neoformans*.

La detección de antígeno capsular de *Cryptococcus neoformans* es uno de los métodos alternativos al cultivo que ha demostrado una mayor utilidad diagnóstica. Existen varias técnicas diseñadas y muchas de ellas comercializadas, basadas en su mayoría en técnicas de aglutinación de partículas de látex o en técnicas de ELISA. Es una técnica sensible y específica, aplicable en muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) y también puede ser útil para otras muestras (suero, orina, y secreciones respiratorias). Es una técnica fácil y rápida, aunque de manera infrecuente puede presentar falsos positivos (factor reumatoide, infecciones por *Trichosporon beigeli*, bacterias y algunas neoplasias). Los casos de falsos negativos se relacionan con fenómenos de prozona, y para ello se ha de diluir la muestra o tratarla con pronasa. En pacientes con SIDA presenta una sensibilidad cercana al 100% en LCR y del 97% en suero. Un suero positivo >1/4 indica infección y si el título es $\geq 1/8$ indica enfermedad activa. A mayor título, mayor gravedad de la enfermedad, y la caída de los

títulos indica un buen pronóstico. En pacientes no infectados por el VIH, la sensibilidad de la detección de antígeno es solo del 75% en LCR y sangre e incluso menor cuando la infección está localizada a nivel pulmonar. A partir de una dilución superior a 1/16, las probabilidades de tener una infección diseminada son muy altas.

No existen métodos estandarizados para la determinación de la sensibilidad a antifúngicos frente a este microorganismo, por lo que se recomienda realizar estos estudios en caso de sospecha de resistencias en centros de referencia. Existen muy pocos casos de resistencias primarias a anfotericina B o fluconazol, pero sí son algo más habitual las resistencias secundarias.

Los puntos de corte propuestos para fluconazol, el antifúngico más utilizado, son: CMI (concentración mínima inhibitoria) de $\leq 8 \mu\text{g/mL}$ - sensible, CMI de $16\text{--}32 \mu\text{g/mL}$ - sensible, pero dependiendo de la dosis del antifúngico, y CMI $\geq 64 \mu\text{g/mL}$ - resistente.