

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURÍ"

Candidiasis esofágica en pacientes con sida. Estudio clínico y microbiológico

Dra. Zenia Flores de Apodaca Verdura,¹ Dr. Gerardo Martínez Machín,² Dr. Aroldo Ruiz Pérez,³ Lic. Carlos M. Fernández Andreu,⁴ Lic. Mayra Muné Jiménez⁵ y Lic. Mayda Perurena Lancha⁶

RESUMEN

Se estudiaron 18 pacientes con sida, que presentaban síntomas gastrointestinales altos o lesiones en la cavidad oral sugestivos de candidiasis. Se obtuvieron datos clínicos, muestras de la cavidad oral, biopsias y cepillado esofágico, así como suero de todos los pacientes. El síntoma que principalmente se observó en la candidiasis esofágica fue la disfagia; la candidiasis oral se comportó de forma asintomática. *Candida albicans* fue la especie que más se aisló con predominio del serotipo A. Se analizaron por la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida los perfiles proteicos de las 12 cepas pertenecientes a esta especie, se observó identidad de sus patrones de peso molecular, lo que sugiere que sea la misma cepa la que se halla en la cavidad oral y en el esófago. Se evaluó la respuesta de anticuerpos anti-*C. albicans*, no resultó útil la inmunodifusión doble para el diagnóstico de candidiasis esofágica.

Descriptor DeCS: CANDIDIASIS/microbiología; CANDIDA ALBICANS/aislamiento & purificación; CANDIDIASIS/complicaciones; ESOFAGOPATIAS/complicaciones; SINDROME DE INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA/complicaciones; ELECTROFORESIS EN GEL DE POLIACRILAMIDA/métodos; INFECCIONES OPORTUNISTAS RELACIONADAS CON SIDA/complicaciones.

En los pacientes seropositivos al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la candidiasis se presenta con frecuencia, y es una de las infecciones micóticas que con determinadas manifestaciones definen el diagnóstico del sida. Más del 90 % de estos pacientes presentan candidiasis oral en algún momento de su enfermedad y entre el 9 y el 20 % desarrollan esofagitis. La candidiasis oral cursa asintomática en la mayoría de los casos, mientras que la esofagitis por *Candida* (rara vez asintomática) suele manifestarse por síntomas gastrointestinales altos como disfagia, odinofagia o dolor retroesternal.¹

El diagnóstico de la forma oral no presenta dificultades, no ocurre así con la esofagitis por *Candida*, pues se requieren estudios endoscópicos con exámenes histológicos y cultivo de especímenes.²

En la actualidad existen varios sistemas comerciales que son útiles para el diagnóstico de este género y se emplean diferentes métodos, como el análisis de extractos de la pared celular de *Candida albicans* por electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) y la elaboración de sondas de ADN específicas para *C. albicans* con fines investigativos.³

El presente estudio tiene como objetivo conocer los aspectos clínicos que caracterizan la candidiasis

¹ Especialista de I Grado en Microbiología.

² Especialista de I Grado en Microbiología. Investigador Agregado.

³ Especialista de II Grado en Medicina Interna. Investigador Agregado.

⁴ Licenciado en Microbiología. Investigador Auxiliar.

⁵ Licenciada en Microbiología. Investigadora Agregada.

⁶ Licenciada en Microbiología. Aspirante a Investigadora.

esofágica en un grupo de pacientes con sida, aislar e identificar las especies de *Candida* más frecuentemente involucradas, determinar el serotipo de *C. albicans* que predomina entre los aislamientos obtenidos y realizar estudios comparativos de las cepas de *C. albicans* con la utilización de la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), así como reconocer la utilidad de la técnica de inmunodifusión doble en el diagnóstico de candidiasis esofágica.

MÉTODOS

El grupo de estudio estuvo integrado por 18 pacientes VIH positivos, que fueron sometidos a esofagoscopia por presentar síntomas gastrointestinales altos o lesiones de candidiasis en la cavidad bucal sugestivas de extenderse al esófago; el estudio tuvo una duración de 9 meses.

A todos los pacientes se les realizó hisopado de la mucosa bucal y endoscopia con cepillado, y biopsia de los tercios proximal y distal de la mucosa esofágica para examen micológico. Se obtuvo suero de cada paciente para efectuar las pruebas serológicas. El procesamiento de las muestras se llevó a cabo siguiendo el esquema general de trabajo empleado en el Laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Se procedió a la obtención de cultivos puros a partir de cada muestra y una vez comprobado su carácter levaduriforme se realizaron los estudios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos necesarios para su identificación.⁴

A las cepas identificadas como *C. albicans* se les determinó el serotipo mediante la técnica de aglutinación en lámina, con un antisuero total antiserotipo A, previamente absorbido.⁵ Se obtuvo antígeno somático a partir de cada una de estas cepas, según la técnica de Palmer y otros,⁶ se le determinó su concentración de proteínas mediante el método de Lowry⁷ y se determinaron los patrones proteicos por la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE).⁸

Electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE). Se realizó una electroforesis discontinua en gel de poliacrilamida al 12,5 %. Los antígenos somáticos utilizados se resuspendieron en igual volumen Laemmli (2x) y con posterioridad fueron calentados a 100 °C durante 5 min. El contenido de la muestra de proteínas fue ajustado a una concentración de 2mg/mL, y se aplicó 20 µL de la muestra a cada pocillo. La electroforesis se efectuó a 120 V, durante 90 min. En cada corrida electroforética se incluyó un marcador de peso molecular (14-94 kD).

Inmunodifusión doble. La detección de anticuerpos anti-*C. albicans* se realizó mediante la técnica de inmunodifusión doble (IDD).⁶

RESULTADOS

Al analizar los resultados de los estudios endoscópicos realizados a los 18 pacientes, éstos quedaron comprendidos en los grupos siguientes:

- Grupo A: candidiasis oral (3).
- Grupo B: candidiasis oroesofágica (5).
- Grupo C: candidiasis esofágica (2).
- Grupo D: sin candidiasis oral, ni esofágica en el momento de tomar la muestra (8).

En los pacientes de los grupos B y C, se observaron diferentes grados de esofagitis, desde dispersas lesiones puntiformes de aspecto algodonoso y blanquecino, hasta placas entre 5 y 6 mm que cubrían numerosas zonas del esófago, en algunos casos no existía correlación entre los síntomas y el grado de la lesión esofágica. Un solo caso incluido en el grupo B presentó lesiones en la porción distal del esófago. En relación con el grupo D, los resultados endoscópicos permitieron demostrar la existencia de otras enfermedades (hernia hiatal, gastritis aguda y úlcera duodenal), que explicaron la sintomatología referida por los pacientes.

Los pacientes con candidiasis bucal se comportaron de forma asintomática, las lesiones se visualizaron fundamentalmente en la lengua y los carrillos. La mayoría eran de tipo pseudomembranoso y en algunos casos se observaron lesiones eritematosas.

La candidiasis esofágica se presentó de forma asintomática en 2 de los 7 pacientes con lesiones, 5 pacientes referían sintomatología. El más común de los síntomas fue la disfagia, sobre todo a los sólidos (fig. 1).

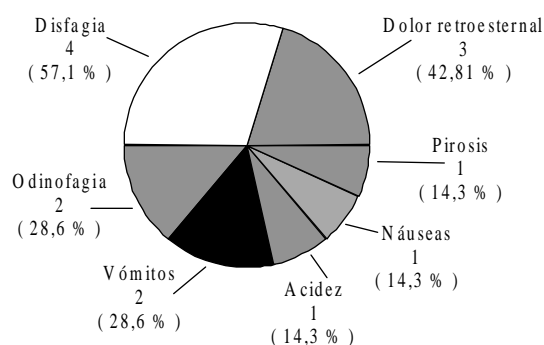


Fig.1. Síntomas y signos más frecuentes en el grupo de pacientes con candidiasis esofágica en estudio.

Del total de 36 muestras procesadas (18 orales y 18 esofágicas), 15 resultaron positivas para 41,7 % (8 orales y 7 esofágicas).

Como se observa en la tabla hubo correlación entre los resultados obtenidos con el examen directo y el cultivo, aunque la positividad por este último fue ligeramente superior. Los resultados de las biopsias y los cepillados esofágicos, tanto en examen directo, como en cultivo, fueron similares.

TABLA. Positividad de las muestras en el examen directo y el cultivo

Muestras	Examen directo	Cultivo
Hisopado de mucosa oral	7	8
Cepillado esofágico	6	7
Biopsia esofágica	5	6

Total de pacientes con lesiones orales: 8.

Total de pacientes con lesiones esofágicas: 7.

Al analizar las especies de *Candida* aisladas en el laboratorio, se observa un franco predominio de *C. albicans* (77 %), también se pudieron identificar 2 cepas de *Candida krusei* y 1 de *Candida guilliermondii*.

En los 5 casos que se aislaron cepas procedentes de la cavidad oral y del esófago en un mismo paciente, éstas pertenecían a la misma especie.

De las cepas identificadas como *C. albicans*, el 58,3 % correspondió al serotipo A y el 41,7 % al serotipo B; al serotipificar las cepas de origen bucal y esofágico de un mismo individuo, se observó que en los 4 casos estudiados se aisló el mismo serotipo.

El análisis de los perfiles proteicos de las cepas procedentes de la cavidad bucal y del esófago, mostró que los patrones de peso molecular (PM) de los péptidos constituyentes, determinados para cada una de las cepas eran idénticos (fig.2).

Con la técnica de IDD se comprobó la ausencia de anticuerpos precipitantes en todos aquellos pacientes que quedaron comprendidos en los grupos A,B y C. En un solo paciente incluido en el grupo D, se hallaron precipitinas anti-*C. albicans*.

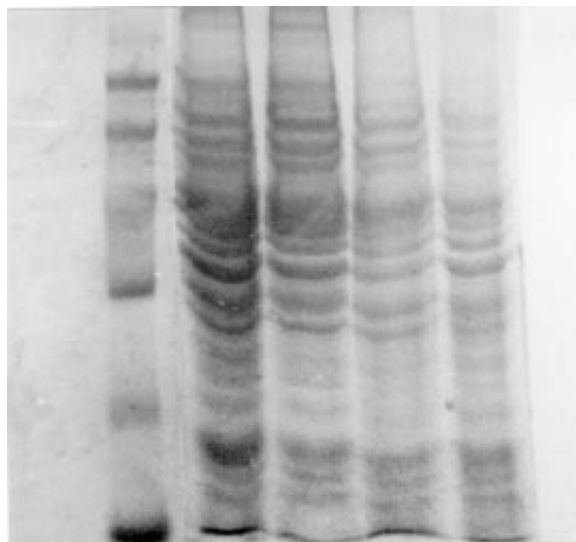


Fig.2. Perfiles proteicos de las cepas de *Candida albicans* obtenidos mediante la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE). A: patrón de peso molecular. B y C: cepas de origen respectivo oral y esofágico aisladas del paciente 1. D y E: igual en el paciente 2.

DISCUSIÓN

En un estudio realizado por Rodríguez Hernández y otros, entre pacientes VIH positivos con candidiasis esofágica, se destaca el hallazgo de diferentes grados de lesiones esofágicas,⁹ lo que coincide con lo encontrado en este estudio.

López Dupla y otros señalan en su estudio, que la disfagia fue el síntoma más común.¹⁰ En las investigaciones de Brockmeyer, se recoge que los pacientes con esofagitis por *Candida*, presentaban dolor retroesternal o una exacerbación de la candidiasis oral,² estos síntomas son los más frecuentes encontrados por nosotros.

Powderly ha señalado que la infección orofaríngea por *Candida* ha sido reportada entre el 7 y el 48 % de los seropositivos al VIH. A medida que progresa la inmunodeficiencia, la candidiasis oral se incrementa hasta alcanzar desde el 43 al 93 %, según diferentes informes y puede extenderse al esófago entre el 10 y el 20 % de los casos.¹¹ En nuestro país, en el año 1993, de un total de 187 casos con sida, 121 (64,7 %) tenían candidiasis oral y 18 (9,6 %) candidiasis esofágica.¹²

Aunque se obtuvieron resultados similares con la biopsia y el cepillado esofágico, éste tiene la ventaja de no ser invasivo, mientras que la biopsia permite confirmar el diagnóstico.¹³ En un trabajo publicado por

Bonacini y otros se expresa que la sensibilidad obtenida con el cepillado endoscópico, fue de 95 %, superior al examen histológico (70 %);¹⁴ esto se pudiera explicar ya que la muestra obtenida para la observación microscópica, en algunos casos, no fue representativa para realizar el diagnóstico.

En todos los casos en que se visualizó lesión endoscópica presuntiva de candidiasis, tanto el examen directo como el cultivo resultaron positivos, de ahí la importancia diagnóstica que se le confiere al examen endoscópico y a su vez, esto permite confirmar al examen directo como un método útil para brindar un resultado preliminar rápido, confiable, además de ser sencillo y económico.

En los últimos 3 años hay reportes de aumento en la incidencia de *C. krusei*, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, además se reporta un aumento en la resistencia de estas cepas a los tratamientos antifúngicos habituales. Esto se ha relacionado con el uso profiláctico de fluconazol.¹⁵⁻¹⁷ Las 2 cepas aisladas de *C. krusei* fueron encontradas en un mismo paciente, en el cual existían evidencias clínicas de resistencia al tratamiento antimicótico empleado.

En un trabajo previo realizado en Ciudad de La Habana con pacientes VIH negativos se obtuvo sólo 4,8 % de serotipo B.⁵ El 41,7 % de este serotipo encontrado en el presente estudio coincide con reportes de otros autores en cuanto a la existencia de una proporción elevada no usual de serotipo B entre aislamientos procedentes de pacientes infectados por VIH. Esto ha permitido sustentar la hipótesis de que las especies de *Candida* asociadas con infecciones en estos pacientes pudieran corresponder con un «selecto» grupo de cepas, pero que esta selección operaría a niveles fenotípicos y no genotípicos, pues estudios realizados mediante análisis del ADN, no muestran diferencias entre cepas de pacientes VIH positivos y las aisladas de otros pacientes en salas de terapia intensiva.^{18,19}

Al analizar los resultados obtenidos en nuestro trabajo, a partir de las cepas aisladas de la cavidad bucal y del esófago de un mismo paciente, observamos que se obtuvo la misma especie. En los casos que se identificaron cepas de *C. albicans* de los 2 lugares, resultaron ser el mismo serotipo y encontramos una identidad entre los patrones proteicos de éstas, obtenidos por PAGE. Estos hallazgos nos hacen pensar que debe ser la misma cepa la que está presente en ambos sitios.

Un estudio previo, desarrollado por *Whelan* y otros, en el que se compararon cepas de *C. albicans* de individuos sanos mediante la utilización de diferentes

marcadores (incluidos análisis de patrones de restricción con diferentes enzimas), concluye que éstos son similares y que las cepas de *C. albicans* que afectan a los pacientes con sida, no constituyen cepas particularmente virulentas.¹⁹

En nuestro estudio, la IDD no resultó útil para la detección de anticuerpos precipitantes anti-*C. albicans* en la candidiasis oroesofágica. Estos resultados coinciden con los de otros autores que han señalado la escasa utilidad de las técnicas de inmunoprecipitación en inmunodeprimidos, aunque es conocido su valor en pacientes inmunocompetentes con candidiasis sistémica.²⁰

Ya es conocido que la candidiasis oral y la esofágica constituyen una importante causa de morbilidad en pacientes infectados por el VIH; sin embargo, se requieren estudios adicionales que permitan llegar a una mejor comprensión de su patogénesis y mejorar las estrategias de control y erradicación del hongo en las superficies mucosas.

SUMMARY

18 AIDS patients who presented high gastrointestinal symptoms or lesions in the oral cavity suggestive of candidiasis were studied. Clinical data, specimen of the oral cavity, biopsies and esophageal brushing, as well as serum from all patients were obtained. Dysphagia was the main symptom observed in the esophageal candidiasis. *Candida albicans* was the most isolated species with a predominance of serotype A. The protein profiles of 12 strains belonging to this species were analyzed by the polyacrylamide gel electrophoresis, and it was found that their molecular weight patterns were identical, which indicates that the same strain is in the oral cavity and in the esophagus. The response of the anti-*C. albicans* antibodies was evaluated. The double immunodiffusion was not useful for the diagnosis of esophageal candidiasis.

Subject headings: CANDIDIASIS/microbiology; CANDIDA ALBICANS/isolation & purification; CANDIDIASIS/complications; ESOPHAGEAL DISEASES/complications; ACQUIRED IMMUNODEFICIENCY SYNDROME/complications; ELECTROPHORESIS; POLYACRYLAMIDE GEL/methods; AIDS-RELATED OPPORTUNISTIC INFECTIONS/complications.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. McCarthy GM. Host factors associated with HIV-related oral candidiasis. A review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992;73(2):181-6.
2. Brockmeyer NH, Hantschke D, Olbricht T, Hengge VA, Goos M. Comparative study of the therapy of *Candida* esophagitis in HIV-1 infected patients with fluconazole or amphotericin B and flucytosine. *Mycoses* 1991;34(1):83-6.
3. Ponton J, Jones JM. Analysis of cell wall extracts of *Candida albicans* by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and Western Blot techniques. *Infect Immunol* 1986;53(3):565-72.

4. Warren NG, Shadomy HJ. Yeasts of medical importance. En: Balows A, Hausler WJ, Herrman KL, Isenberg HD, Shadomy HJ, eds. Manual of clinical microbiology. 5 ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1991:617-29.
5. Martínez Batista ML, Martínez G, Fernández CM, Llop A. Serotyping of *Candida albicans* isolated from clinical specimens. Mem Inst Oswaldo Cruz 1990;85(1):61-4.
6. Palmer DF, Kaufman L, Kaplan W, Cavallaro JJ. Serodiagnosis of mycotic diseases. Springfield: Charles C. Tomas, 1977:44-52.
7. Lowry OH. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 1951;193:265-75.
8. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970;227:680-5.
9. Rodríguez HH, Reyes GE, Elizondo RJ. Esophageal candidiasis in AIDS. Clinical, endoscopic and histopathologic analysis of 19 cases. Rev Invest Clin 1991;43(2):124-7.
10. López Dupla M. Clinical, endoscopic, immunologic and therapeutic aspects of oroesophageal and esophageal candidiasis in HIV-infected patients: a survey of 114 cases. Am J Gastroenterol 1992;87(12):1771-6.
11. Powderly WG. Oral and gastrointestinal candidiasis in HIV-positive patients. HIV: Adv Res Ther 1994;4(1):10-4.
12. Pérez J, Torres R, Joanes J, Terry H. HIV infection in Cuba. AIDS und HIV Infektionen 1993;8:1-9.
13. Trier JS, Bjorkman DJ. Esophageal, gastric and intestinal candidiasis. Am J Med 1984;77(4D):39-43.
14. Bonacini MT, Joung T, Laine L. The causes of esophageal symptoms in human immunodeficiency virus infection. A perspective study of 110 patients. Arch Intern Med 1991;151(8):1567-72.
15. Wingard JR, Merz WG, Rinaldi MG, Johnson TR, Karp JE, Saral R. Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. N Engl J Med 1991;325:1274-7.
16. McQuillen DP, Zingman BS, Meunier F, Levitz SM. Invasive infections due to *Candida krusei*: report of ten cases of fungemia that include three cases of endophthalmitis. Clin Infect Dis 1992;14:472-8.
17. Akova M, Akalin ME, Uzun O, Gür D. Emergence of *Candida krusei* infections after therapy of oropharyngeal candidiasis with fluconazole. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1991;10:598-9.
18. Odds FC. Typing of *Candida albicans* strains. J Med Vet Mycol 1992;30(1):87-93.
19. Whelan WL, Kirsch DR, Kwon-Chung KJ, Wahl SM, Smith PD. *Candida albicans* in patients with the acquired immunodeficiency syndrome: absence of a novel or hypervirulent strain. J Infect Dis 1990;162:513-8.
20. Rodríguez Díaz JC, Ruiz L, Diéguez A, Sánchez Souza A. Comparación de varias técnicas serológicas en el diagnóstico de infecciones por *Candida*. Rev Iberoam Micol 1993;10(2):571-4.

Recibido: 19 de octubre de 1996. Aprobado: 17 de julio de 1997.

Dra. *Zenia Flores de Apodaca Verdura*. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Apartado 601, Marianao 13, Ciudad de la Habana, Cuba.