



# Boletín Venezolano de INFECTOLOGÍA

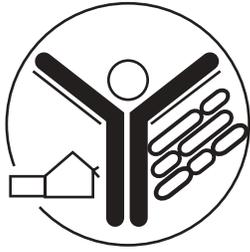
Órgano Oficial de la Sociedad Venezolana de Infectología

Depósito legal: pp198603CS319

ISSN: 0798-0566



**Bol Venez Infectol Vol. 16 - N° 2, julio-diciembre 2005**



SOCIEDAD VENEZOLANA  
DE INFECTOLOGÍA  
JUNTA DIRECTIVA 2004-2006

Presidenta  
DRA. MARÍA CAROLYN REDONDO  
Vicepresidente  
DR. JULIO CASTRO  
Secretaria General  
DRA. MARÍA EUGENIA LANDAETA  
Secretaria de Actas  
DRA. ISABEL CARLOTA SILVA  
Tesorera  
DRA. MARINÉS VANCAMPENHOUD  
Vocales  
DR. ROLANDO ANSELMÍ  
DRA. MILVIDA CASTRILLO  
DR. SALVATORE FERRARO

BOLETÍN VENEZOLANO  
DE INFECTOLOGÍA  
CONSEJO EDITORIAL

Presidente  
DR. JULIO CASTRO  
Vicepresidente  
DR. NAPOLEÓN GUEVARA  
Directora Ejecutiva  
DRA. LADDY CASANOVA DE ESCALONA

COMITÉ EDITORIAL

DR. MARIO COMEGNA  
DR. ANTONIO RÍOS  
DR. MANUEL GUZMÁN  
DR. JOSÉ ANTONIO SUÁREZ  
DRA. MARÍA EUGENIA LANDAETA  
DRA. MARINÉS VANCAMPENHOUD

# Boletín Venezolano de INFECTOLOGÍA

Órgano Oficial de la Sociedad Venezolana de Infectología

Depósito legal: pp198603CS319

ISSN: 0798-0566

Bol Venez Infectol Vol. 16 - Nº 2, julio-diciembre 2005

## CONTENIDO

Editorial	
Julio S Castro Méndez .....	110
Adherencia al tratamiento antirretroviral en una consulta de infectología	
Adriana Centeno, Silvia Meza, Esther Barella, María Díaz, Grace Álvarez, Heidi Mago, Isabel Díaz.....	111
Evaluación del tratamiento de la osteomielitis crónica en un hospital general	
Jocays Caldera, Yrene Vásquez, Rafael Guevara, Marisela Silva .....	116
Aislamiento de plásmidos conjugativos en cepas de enterobacterias productoras de $\beta$ -lactamasas de espectro expandido	
M Benítez, M Domínguez, L Torres, G Vílchez, R Pedroza...124	
Comportamiento epidemiológico de la coinfección virus de hepatitis B y virus de hepatitis C con el virus de inmunodeficiencia humana	
Delsa Delgado Ch, Patricia Mantilla, Gabby Hernández V, Velmar Quintero P.....	133
Histoplasmosis y síndrome hemofagocítico en pacientes pediátricos con infección por el virus de inmunodeficiencia humana	
María Graciela López, Luigina Siciliano, José Franco, Juan Félix García, Francisco Valery, Lisbeth Aurenty, Analisa Espósito, Miriam Miranda, Maribel Torres, Daloy González..137	
<i>Candida dubliniensis</i> en pacientes VIH/SIDA, en Venezuela	
Claudia Hartung de Capriles, Sofía Mata-Essayag, Celina Pérez, María Teresa Colella, Arantza Roselló, Carolina Olaizola, Sylvia Magaldi, Teresa Abate.....	142
<i>Candida spp</i> en pacientes VIH/SIDA	
Claudia Hartung de Capriles, Sofía Mata-Essayag, Celina Pérez, María Teresa Colella, Arantza Roselló, Carolina Olaizola, Sylvia Magaldi, Leopoldo Deibis, Teresa Abate, Judith Ontiveros.....	146
Semblanza del Posgrado de Infectología del Hospital Universitario de Caracas (HUC)	
María J Núñez .....	154

El Boletín Venezolano de Infectología, es una publicación semestral, órgano oficial de la Sociedad Venezolana de Infectología. Está indexada en la Base de Datos LILACS/CD Room y está inscrita en Asereme.

**Sociedad Venezolana de Infectología.** Avenida Libertador, Parroquia El Recreo, Torre Maracaibo, Piso 12, Oficina. 12-G, Caracas. Tlfax: (212) 763.1023 - Tlf.: (212) 761.4711 • e-mail: socv Infect@cantv.net • www.svinfectologia.org

**Edición:** Editorial Ateproca. Teléfono: (212) 793.5103. Fax: (212) 781.1737. e-mail: ateproca@cantv.net • www.ateproca.com

## Editorial

Dr. Julio S Castro Méndez

Editor

Ha sido una experiencia gratificante poder tener la oportunidad de ser testigo de un avance sustantivo en la calidad y cantidad de trabajos enviados para publicación a las jornadas nacionales y congresos en los últimos años. Esto sin duda obedece a un esfuerzo de muchas personas que han tenido como meta mejorar el *standard* de nuestro nivel científico nacional; en contra de algunas opiniones hace ya algunos años, elevar la rigurosidad de evaluación de los resúmenes y de los trabajos completos que se envían a la Sociedad, lejos de desestimular a los autores, ha sido un empuje para publicaciones de mayor calidad científica y como si fuera poco mayor número de ellos, por esa razón hoy en día nuestra publicación se nutre de trabajos interesantes y originales, tanto así que tenemos la capacidad de escoger los mejores trabajos para nuestra revista.

Otro aspecto fundamental para resaltar de las publicaciones es el hecho de que grupos de científicos han formado líneas de investigación que mantienen a través del tiempo lo cual sin duda tiene un impacto innegable en la calidad de publicaciones, y vemos con orgullo como avanzamos hacia trabajos de investigación mucho más técnicos y profundos. En este volumen podemos contar con aspectos tan novedosos como biología molecular en bacterias productoras de beta lactamasas de espectro expandido, VIH, candidiasis, y enfermedades emergentes.

Todavía nos queda mucho por andar, pero sin duda hemos avanzado, la regularidad de la revista se hace palpable, y nuestra meta sería expandir las secciones de la revista hacia secciones fijas de interés general como revisiones bibliográficas, sección de casos clínicos interesantes, cartas al editor con comentarios sobre los trabajos publicados, para lo cual la participación de todos es fundamental.

Incluimos en este número la reseña histórica del Servicio de Infecciosas del Hospital Universitario de Caracas realizada por la Dra. María J Núñez en conmemoración de los 20 años del Servicio de enfermedades infecciosas de ese importante centro asistencial, como un aporte a la historia de la Enfermedades Infecciosas en Venezuela, entendiendo que nuestra memoria histórica es un valor fundamental para la preservación de nuestra identidad como venezolanos.

# Adherencia al tratamiento antirretroviral en una consulta de infectología

Adriana Centeno, Silvia Meza, Esther Barella, María Díaz, Grace Álvarez, Heidi Mago, Isabel Díaz

Unidad de Infectología Adultos. Ciudad Hospitalaria "Dr. Enrique Tejera"

## RESUMEN

**Objetivo:** Estudiar el grado de adherencia al tratamiento antirretroviral en los pacientes controlados por la consulta de infectología adultos, en la CHET.

**Metodología:** Se realizó un estudio descriptivo-prospectivo entre junio y agosto de 2004, aplicando una encuesta al 30 % del total de pacientes controlados. Por esta consulta hasta la fecha.

**Resultados:** 32,56 % femeninos y 67,44 % masculinos, 65 % de 21-40 años. Con tiempo de tratamiento menor a un año 60 %; 32,56 % con pareja estable y 42 % desempleados. 65 % con estudios entre medios y superiores. 86 % tuvo buena tolerancia al tratamiento desde su inicio. En 15 (34 %) pacientes hubo necesidad de cambiar el tratamiento, 3 por incumplimiento, 3 por disponibilidad y 9 por efectos adversos, 2 abandonaron el tratamiento en alguna oportunidad y 50 % presentó algún signo de depresión. Tres abandonaron el tratamiento en alguna ocasión, de estos 2 con ideas suicidas, 2 desempleados, 2 con intolerancia al tratamiento por efectos adversos, ninguno con pareja estable y no hubo preferencia sexual. El 98 % refirió buena adherencia a su tratamiento, 82 % se tomaban el tratamiento siempre en el mismo horario. Del total de pacientes 18 (42 %) con un segundo control de CD4 y carga viral, evidenciando mejoría en todos los casos, independientemente de su adherencia.

**Conclusiones:** Evidenciamos buena adherencia en los pacientes, independientemente de su edad, sexo, grado de instrucción, o preferencia sexual; la tolerancia, la necesidad de cambio y el abandono tuvo relación con el estado emocional, al igual que lo reportado por otros autores. Tampoco hubo diferencias entre los esquemas de tratamiento y la adherencia al mismo.

## INTRODUCCIÓN

Desde la época hipocrática es conocido que no todos los pacientes cumplen con las recomendaciones de su médico, esto es el factor más importante del fracaso terapéutico. El cumplimiento

incorrecto es el factor más importante de fracaso terapéutico, se desarrollan resistencias y si es importante desde el punto de vista individual es de una gran trascendencia para la comunidad por la posibilidad de transmisión de cepas con multirresistencia (1).

La incidencia y prevalencia de incumplimiento es difícil de cuantificar, quizás porque no existe un método universalmente aceptado para evaluar el cumplimiento. Este varía según la población estudiada, los fármacos empleados y el tiempo de seguimiento (2). El concepto de adherencia o cumplimiento (ya que ahora se aplican de manera indiferenciada) ha tomado en la actualidad una importancia tan notable como el de eficacia. Algunos estudios publicados recientemente han encontrado tasas de cumplimiento inferiores al 40 %-50 % en pacientes infectados por el VIH (3).

La complejidad del régimen de tratamiento está fuertemente relacionada con la adherencia. Los expertos en asuntos de la adherencia han advertido la necesidad de diseñar regímenes antirretrovirales más simples sin perder la potencia terapéutica, por otro lado estas drogas pueden ser extremadamente tóxicas, causando efectos adversos que repercuten en la calidad de la vida de los pacientes. Esta relación entre la adherencia y la calidad de la vida se ha sugerido, aunque su causalidad no está clara

Desde que en 1997 se acuñó claramente el concepto de HAART "*Highly active antiretroviral therapy*" que en español podría resumirse como "Tratamiento intensivo, potente o de gran actividad", mucho ha cambiado el escenario de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Se considera desde entonces que los pacientes deben ser tratados al menos con tres fármacos, preferentemente de familias o grupos de antirretrovirales diferentes siendo la asociación de dos análogos de nucleósidos y un inhibidor de

la proteasas hasta hace pocos meses la terapia estándar. Con la aparición de los no análogos de nucleósidos, que han demostrado una eficacia similar a los inhibidores de la proteasas, se han ampliado las combinaciones iniciales.

El tratamiento antirretroviral en pacientes "naive" alcanza una efectividad de alrededor del 70 %-80 % respecto a conseguir cargas virales por debajo de los límites de detección (en la mayoría de las técnicas estándares, por debajo de 40-80 copias) manteniendo durante meses a los pacientes en esta situación (2). No obstante, es frecuente que debido a diversos factores, el VIH pueda escapar al control del tratamiento al desarrollar cepas resistentes lo que obliga al clínico a diseñar nuevas pautas de tratamiento que casi siempre supone incrementar el número de fármaco o de pastillas que toma el paciente (5). Se habla en estos casos, sobre todo después de varios fracasos de tratamiento, de la utilización de MEGA-HAART, que quiere decir la utilización de entre 5 y 7 fármacos a la vez.

Los tratamientos actuales hasta hace poco y aún en la actualidad suponen para el paciente la toma de un mínimo de 4 pastillas y un máximo difícil de precisar pero que podría llegar a las 20 pastillas diarias. Estos fármacos pueden provocar (como cualquier fármaco en general) ciertos efectos secundarios que en ocasiones pueden alterar la calidad de vida de dichos pacientes.

## OBJETIVO

En el presente trabajo, nos propusimos a estudiar el grado de adherencia al tratamiento antirretroviral en los pacientes controlados por la consulta externa de infectología adultos, en la Ciudad Hospitalaria "Dr. Enrique Tejera", (Valencia - Venezuela) y los factores que en ella inciden.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo-prospectivo durante un período de dos meses (junio y agosto de 2004) aplicando una encuesta anónima, a 43 pacientes infectados por el VIH, que representaban el 30 % del total de pacientes controlados por esta consulta hasta la fecha.

## RESULTADOS

Del total de pacientes encuestados 14 (32,56 %) femeninos y 29 (67,44 %) masculinos, la distribución por edades (Figura 1) fue: <20 años: 1 (2 %), 21-30 años: 16 (37 %), 31-40 años: 12 (28 %), 41-50 años: 11 (26 %) y >50

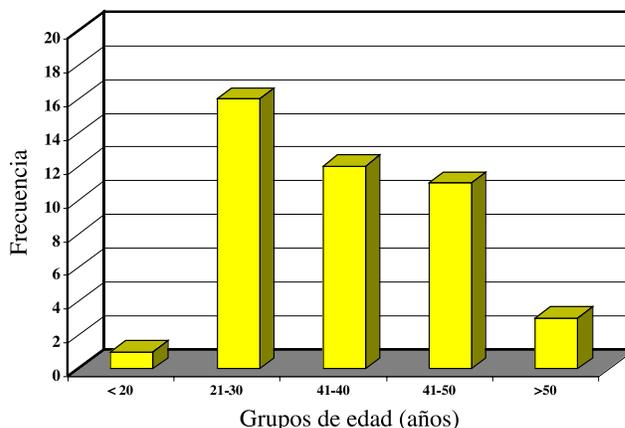


Figura 1. Distribución según la edad.

años: 3 (7 %); el 90 % eran procedentes del estado y sólo 10 % de estados vecinos. Con respecto al tiempo de diagnóstico y tratamiento el 60 % tenían menores de un año, 30 % entre 1-5 años y sólo 10 % más de 5 años (Figura 2), 37 % fueron incluidos en el programa después de una hospitalización y el 63 % por consulta externa. La mayoría, el 56 % heterosexuales, 35 % homosexual y sólo 9 % bisexuales; de estos sólo 14 (32,56 %) tenían pareja estable y 58 % trabajaban, el resto desempleados. En relación al grado de instrucción fue variable 32,55 % con estudios de primaria 41,85 % bachillerato 23,25 % superiores (completos o no) y 2,32 % analfabetas. En el 86 % hubo una buena tolerancia al tratamiento desde su inicio. En sólo 15 (35 %) hubo necesidad de cambiar el tratamiento (Figura 3) de los cuales eran 11 hombres y 4 mujeres, de estos, 3 por incumplimiento, 3 por disponibilidad

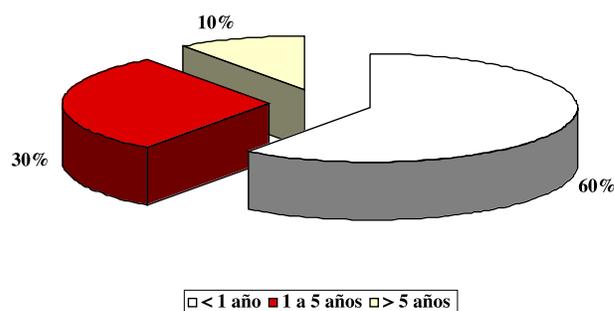


Figura 2. Distribución según el tiempo de tratamiento.

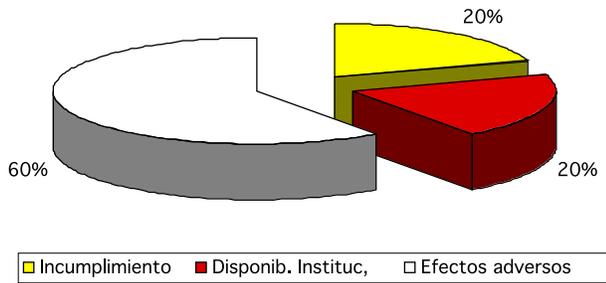


Figura 3. Distribución porcentual de las causas por las cuales se cambiaron algunos esquemas terapéuticos.

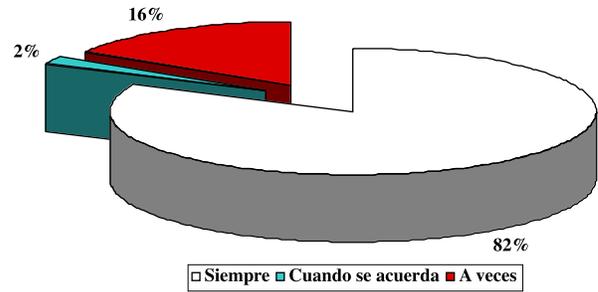


Figura 4. Medición del grado de adherencia según el cumplimiento estricto del tratamiento.

institucional y 9 por efectos adversos (3 gastrointestinales, 1 hematológica y 5 por mala respuesta al tratamiento). De estos 15 pacientes, 2 abandonaron el tratamiento en alguna oportunidad, 3 refirieron ideas suicidas, 7 llanto sin causa aparente, 6 insomnio, 4 disminución del apetito y 5 menos deseo de realizar sus actividades cotidianas (estos ítemes se repitieron en un mismo paciente varias veces). Sólo 3 abandonaron el tratamiento en alguna ocasión, de estos 2 con ideas suicidas, 2 desempleados, 2 con mala tolerancia al tratamiento por efectos adversos gastrointestinales, ninguno con pareja estable y no hubo diferencias relacionadas con la preferencia sexual, ni el estadio de la enfermedad o el número de comprimidos diarios. Todos mostraron empatía y estar satisfechos con la atención médica.

El 98 % refirió buena adherencia a su tratamiento, el 82 % se tomaban el tratamiento siempre en el mismo horario (Figura 4) y sólo 18 % de forma irregular, en este grupo tampoco hubo predominio en cuanto al estadio de la enfermedad (Figura 5), ni con respecto al número de comprimidos diarios del tratamiento antirretroviral (Figura 6), el 55,5 % de ellos entre 1 y 5 años de tratamiento. Del total de pacientes sólo 18 (42 %) tenían un segundo control de CD4 y carga viral, evidenciando mejoría en todos los casos, independientemente de su adherencia. Esto quizás por el pequeño número de pacientes que mostraron poca adherencia o al poco tiempo que tienen en el programa, en su mayoría tienen menos de 5 años, porque el plan nacional para el suministro de terapia antirretroviral en este centro fue incluido hace sólo 3 años.

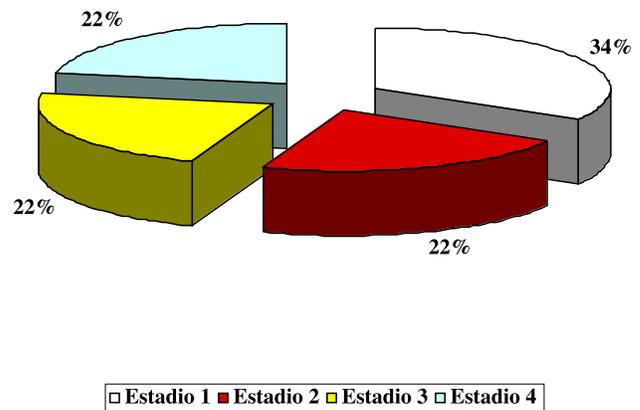


Figura 5. Comparación entre el bajo nivel de adherencia con relación al estadio de la enfermedad, según el CD4.

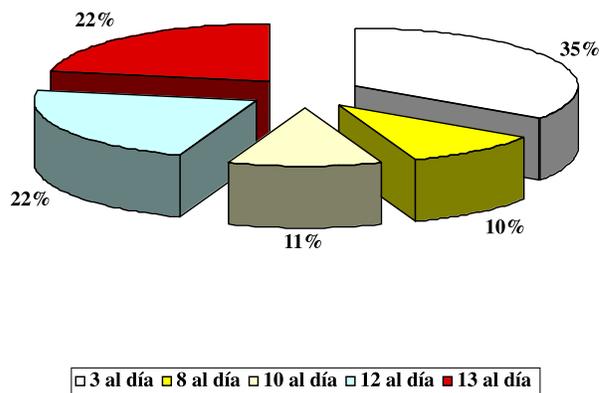


Figura 6. Relación adherencia y número de píldoras al día.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Existe una forma práctica para calcular el grado de adherencia y es el cálculo del porcentaje

de adherencia, se calcula de la siguiente forma:  
 $\% \text{ de adherencia} = (\text{N}^\circ \text{ de comprimidos tomados} / \text{N}^\circ \text{ de comprimidos prescritos}) \times 100$

Cuanto mayor sea la adherencia, mayor será el porcentaje de pacientes con carga viral indetectable. Esto es así porque una buena adherencia al tratamiento implica unos niveles plasmáticos de los fármacos en sangre suficientes para inhibir la replicación del virus. De esta manera, se calcula que un 95 % del virus desaparece del organismo y únicamente quedan los virus latentes que se encuentran en el interior de células inmunitarias no activas. Una buena adherencia a la medicación antirretroviral exige cumplir con la medicación en más de un 90 %. Cuando la concentración en plasma de fármaco es sub-óptima, permite la replicación de algunos virus y puede aparecer, al azar, una mutación que le confiera resistencia al fármaco. Una mala adherencia a la medicación produce una concentración en plasma sub-óptima y ofrece el medio idóneo para que proliferen cepas de virus resistentes al fármaco del tratamiento, incorporando mutaciones comunes a otros fármacos, es decir, desarrolla, no solamente una resistencia al fármaco del tratamiento en curso, sino que acaba produciendo virus resistentes a otros tratamientos de posible elección (6).

La adherencia al tratamiento constituye un problema complejo y multifactorial, sólo un enfoque multidisciplinario puede tener resultados satisfactorios.

Algunos estudios publicados recientemente han encontrado tasas de cumplimiento inferiores al 40 %-50 % en pacientes infectados por el VIH, (5) lo que ha planteado un problema de primer orden. Conviene en primer lugar valorar los diferentes factores que influyen en la adherencia antirretroviral. En general evidenciamos una buena adherencia al tratamiento antirretroviral en los pacientes de nuestra consulta, evidenciado por la aceptación, tolerancia y rigurosidad en la administración del tratamiento, lográndose una tasa de adherencia del 82 %.

Los factores asociados a la adherencia pueden atribuirse al individuo, a la enfermedad, al tratamiento o al equipo asistencial.

**Individuo.** Las características demográficas (edad, sexo, raza, estudios, ocupación), así como el nivel cultural y la situación económica, no son factores predictores del nivel de adherencia de un individuo. En nuestra investigación tampoco encontramos relación de estos factores con la adherencia, la cual fue independiente de edad, sexo, grado de instrucción, o preferencia sexual. Los factores psicológicos influyen en el

cumplimiento, la ansiedad, la depresión, el alcoholismo empeoran la adherencia. Las actitudes y creencias de los pacientes respecto a la medicación, la enfermedad y el equipo asistencial son factores a tener en cuenta. En nuestro caso también, la tolerancia, la necesidad de cambio de esquema terapéutico y el abandono del tratamiento, estuvo más en relación con el estado emocional del paciente, y se observó un moderado grado de depresión en ellos, evaluado por el menor deseo de realizar actividades cotidianas, llanto sin causa aparente, insomnio, disminución del apetito e ideas suicidas, al igual que lo reportado por otros autores (4), que coinciden en que el factor psicológico es el principal condicionante en la adherencia a un tratamiento.

La situación en indigentes, marginados y usuarios de drogas, es extraordinariamente compleja; en estudios transversales realizados en adictos activos, el 49 %-60 % no recibían ningún tratamiento antirretroviral y sólo el 14 %-17 % recibían tratamiento de gran actividad. En cuanto a tuberculosis en población marginal se ha descrito que sólo el 11 % completaba el tratamiento. En nuestra serie, la población fue económicamente homogénea, por lo cual no podemos evidenciar relación con estos factores.

#### **Enfermedad y tiempo con la medicación antirretroviral**

La infección por el VIH puede cursar de forma asintomática o sintomática y la aceptación y adherencia al tratamiento pueden ser diferentes en cada una de estas fases. El mal pronóstico que presenta la enfermedad en ausencia de tratamiento puede ser de ayuda para comprender la necesidad del mismo. Es conocido que muchos pacientes con tuberculosis dejan la medicación en ausencia de síntomas. Por otra parte, el tiempo con el tratamiento incide negativamente en la adherencia (7). En esta serie no pudimos relacionar el estadio de la enfermedad ni el tiempo de tratamiento con la adherencia, debido a que la mayoría de los casos estaban recibiendo tratamiento por menos de dos años, y no hubo predominio alguno en cuanto al estadio de la clasificación del CDC, no obstante el grueso de los pacientes se encontraban sin enfermedades oportunistas y en relativas buenas condiciones generales.

#### **Régimen terapéutico**

En numerosos estudios se ha demostrado que la adherencia a un tratamiento disminuye cuando aumentan el número de fármacos y la frecuencia

de administración, con la aparición de efectos adversos y cuando el tratamiento es prolongado en el tiempo (8,9). En nuestro trabajo no hubo diferencias entre los esquemas de tratamiento y la adherencia al mismo coincidiendo con otros autores, en que el paciente VIH (+) es capaz de tolerar el número de comprimidos y los efectos adversos en pro de la eficacia de su tratamiento (9).

### Equipo asistencial

La relación que se establece entre el equipo asistencial y el paciente es de suma importancia. La confianza, continuidad, accesibilidad, flexibilidad y confidencialidad son factores que influyen favorablemente (4). En nuestra serie, todos mostraron estar satisfechos con la atención médica ofertada, lo cual se reflejó en los niveles de adherencia reportados.

## REFERENCIAS

1. Metha S, Moore RD, Graham NMH. Potential factors affecting adherence with HTV therapy. *AIDS*. 1997;11:1665-1670.
2. Humma L M. Prevention and treatment of drug resistant tuberculosis. *A J Health Syst Pharm*. 1996;53(Oct):2291-2298, 2335-2337.
3. Miller LG, Hays RD. Measuring adherence to antiretroviral medications in clinical trials. *HIV Clin Trials*. 2000;1:36-46.
4. H Knobel. Adherencia al tratamiento TBC/VIH. Papel del Clínico Servicio Medicina Interna-Infecciosas. Hospital del Mar. Barcelona. *Rev Esp Sanid Penit*. 1999;1:128-131 43.
5. García B. Cumplimiento del tratamiento antirretroviral: Tendón de Aquiles de la nueva terapia de combinación. *Noticias farmacoterapéuticas*. 1997;18:1-4.
6. Codina C, Sardá P, Salvador E, Monterde J, Ribas J. Database program for creating individualized patient drug information and medication schedules. *Am J Hosp Pharm*. 1992;49:131-132.
7. Knobel H. Cómo y por qué debe monitorizarse la adherencia al tratamiento antirretroviral en la actualidad. *Enferm Infec Microbiol Clin*. 2002;20(10):481-483.
6. Carmina R. Fumaz y Bonaventura Clotet. Gravamen de cambios en adherencia y la calidad de la vida después de la simplificación del tratamiento de Antirretroviral. *IAPAC Mensual Julio de 2003;9(7)*.
9. Mannerheimer S. et al. 13th WAC, Durban, 2000, # B421.
10. Sherer R, et al, IDSA, San Diego, 2003, # 658.
11. Millar, LG et al, *Int J STD & AIDS*. 2002;13:593.

# Evaluación del tratamiento de la osteomielitis crónica en un hospital general

Jocays Caldera, Yrene Vásquez, Rafael Guevara, Marisela Silva

Hospital Universitario de Caracas

## RESUMEN

La osteomielitis crónica, complicación más común de una infección aguda de las estructuras óseas que produce su destrucción progresiva, ha persistido en el tiempo como un problema de salud de difícil solución, con limitaciones diagnósticas y terapéuticas, que provocan múltiples recurrencias y hospitalizaciones, además de largas estancias y gastos hospitalarios.

**Objetivo:** Conocer la evolución en el tiempo del tratamiento de la osteomielitis crónica en un hospital general.

**Métodos:** Se realizó un estudio retrospectivo, descriptivo y analítico, para ello se efectuó la revisión de los datos registrados en las historias clínicas de los archivos del Hospital Universitario de Caracas (HUC), en el período comprendido entre enero de 1995 y enero de 2001, obteniéndose un total de 282 casos, de los cuales 207 reunieron los criterios de inclusión (73,40 %).

**Análisis estadístico:** Los datos se analizaron mediante Chi cuadrado ( $\chi^2$ ), cálculos de porcentajes simples y promedios.

**Resultados:** Observamos que a 159 pacientes (76,81 %), se les realizó tratamiento quirúrgico. En 49,06 % de los casos, el tratamiento antimicrobiano estuvo basado en pruebas de sensibilidad *in vitro* de los microorganismos aislados a partir del cultivo óseo o de secreción obtenida durante la intervención quirúrgica. Se observaron recaídas en el 40,22 % de los casos. La combinación de antibióticos más empleada fue cefalotina con aminoglicósidos, situación que no se ha modificado en los últimos 6 años.

**Conclusión:** Nuestro estudio demuestra que a pesar de la mejor utilización de métodos diagnósticos como la radiología simple y cultivos óseos en los últimos años, las dificultades terapéuticas persisten sin mayores modificaciones en el HUC; lo que refleja un manejo no óptimo de las infecciones esqueléticas y una inadecuada combinación de tratamiento médico quirúrgico, generando una morbilidad significativa, afectación de la

calidad de vida del paciente e incremento en los costos hospitalarios.

**Palabras clave:** Osteomielitis crónica. Tratamiento quirúrgico. Tratamiento médico.

## INTRODUCCIÓN

La osteomielitis crónica es un proceso infeccioso del hueso de más de 6 semanas de evolución (1-3), o cuando ocurre una recaída después de haber tratado un evento de osteomielitis aguda (1,4-6), afecta cualquier parte de la estructura del hueso; se produce como consecuencia de una invasión bacteriana y en menor frecuencia micótica; se puede presentar en cualquier grupo etario (1,4,8,9). Se clasifica según la presentación clínica y tiempo de evolución en: aguda, sub-aguda y crónica; según la vía de diseminación utilizada por el agente causal, en: hematogena, por contigüidad con o sin insuficiencia vascular, postraumática y posquirúrgica (1-5,8,10-12).

Es la complicación tardía más común de una infección aguda de las estructuras óseas, caracterizada por la destrucción progresiva del hueso y afectación de los tejidos blandos circundantes (7,8,13). Es más frecuente en adultos, y por lo general es secundario a un traumatismo y/o cirugía traumatológica, con una incidencia del 23 % a 50 % en fracturas abiertas (1,3,7,8,10,14-20). Es consecuencia de un diagnóstico tardío o de un tratamiento inadecuado (2,4,14).

Los microorganismos comúnmente aislados en pacientes con osteomielitis crónica son: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Echerichia coli* (3,7,8,10,13,17,18). Las infecciones polimicrobianas aparecen en un 30 % a 50 % de los casos asociados a insuficiencia vascular, y en menor proporción en fracturas abiertas o posterior

a cirugía (1,8,10,14,18,21,22).

El diagnóstico de la enfermedad se realiza a través de la clínica y los estudios de imágenes (radiología simple, tomografía axial computarizada, resonancia magnética nuclear, fistulografías y gammagrafía), histológicos y microbiológicos; en algunas oportunidades el diagnóstico sólo es posible mediante procedimientos histopatológicos especiales y el aislamiento del agente causal, por medio de los cultivos óseos (1,3-5,7,8,15,17).

El examen microbiológico e histopatológico del hueso son los métodos principales para el diagnóstico de osteomielitis, con un 95 % de sensibilidad y 99 % de especificidad (1,3,6-8,13-15,18,20,22).

Para instaurar un tratamiento antimicrobiano eficaz, es esencial establecer un diagnóstico etiológico definitivo mediante el cultivo del material óseo. Dicho material puede ser obtenido a través de la aspiración o biopsia con aguja percutánea (70 % de positividad), o toma de muestras durante la intervención quirúrgica, previa localización de la lesión con estudios de imágenes (1,5,7,8,10,12-14,17,20,22).

El tratamiento principal de la osteomielitis crónica es la cirugía, combinada con la terapia antimicrobiana como auxiliar importante, previa determinación del agente etiológico y la susceptibilidad, se debe mantener la estabilidad de la fractura, la cobertura adecuada de los tejidos blandos y lograrse la restauración de la circulación sanguínea. Con los antibióticos sólo se alcanza un control de la infección, pero no su erradicación; además no se recomienda la terapia antimicrobiana empírica (1,3,5-8,10-14,20,22-24).

Después de 4 a 6 semanas del comienzo de la infección ósea aguda, se forma el secuestro, característico de esta patología, que se comporta como un cuerpo extraño; la penetración de los antibióticos en estas áreas es muy baja, lo que dificulta aún más el tratamiento (4,22,25). En estos casos el diagnóstico debe ser precoz, realizarse el tratamiento quirúrgico con debridamiento adecuado del tejido blando y óseo necrótico, toma de todo el material para cultivo, la eliminación del espacio muerto, la extracción de dispositivos de estabilización de fracturas que no sean estrictamente necesarios y el retiro de prótesis cuando estén presentes (1,3,7,10,13,17,18,22,25-32). El tratamiento antimicrobiano debe mantener entre 4 a 8 semanas, aunque se han descrito y utilizado períodos más prolongados. Se prefiere durante la fase inicial la administración parenteral, seguida de terapia

antimicrobiana oral (1,3,5,7,8,13,14,18,22,24,30-36).

Todos los tipos de osteomielitis pueden progresar hacia la cronicidad, con múltiples recaídas, persistencia del hueso muerto y tejido cicatrizal infectado, áreas donde la acción de los antimicrobianos solos son deficientes, debido al deterioro de la vascularización local; por lo que se requiere de una terapia médico-quirúrgica adecuada (1,10,13,14,24,25,30). Si no se realiza el tratamiento apropiado, se conduce al paciente a un futuro desalentador, colmado de recurrencias, múltiples hospitalizaciones, largas estancias hospitalarias, deterioro progresivo de la salud, afectación del paciente desde el punto de vista emocional, familiar y social, debido a deformaciones, amputaciones y/o discapacidad física progresiva, que afectan su calidad de vida (14,17,26).

El promedio de hospitalización de los pacientes con osteomielitis crónica es aproximadamente de 4 a 6 semanas, esto representa una carga económica hospitalaria importante y si el tratamiento no es el adecuado, ese tiempo se prolonga y limita la reincorporación del paciente a sus actividades cotidianas.

En consecuencia, la osteomielitis crónica se convierte en un problema médico-social, que requiere de un diagnóstico precoz y de un tratamiento óptimo del paciente (2,26), por parte de un equipo multidisciplinario, que incluya la colaboración de especialidades como traumatología, ortopedia, infectología, cirugía plástica, rehabilitación, psiquiatría, nutrición y trabajo social (8,18,26,30,32).

## MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de carácter descriptivo y analítico, en el cual se revisaron los datos registrados en las historias clínicas de todos los pacientes con diagnóstico de osteomielitis crónica, que cumplieron con los criterios de inclusión, en el período comprendido entre enero de 1995 y enero de 2001, en el Hospital Universitario de Caracas. Se dividieron en 2 grupos: A (1995 a 1997) y B (1998 a enero 2001), para realizar las comparaciones. Criterios de inclusión: se incluyeron a los pacientes con edades comprendidas entre 15 y 90 años, de ambos sexos y que cumplieron con uno o más de los siguientes criterios: 1. Pacientes hospitalizados por osteomielitis crónica, entre enero de 1995 y enero de 2001 2. Tiempo de evolución clínica mayor de un mes. 3. Que tuvieran diagnóstico radiológico, microbiológico o

histopatológico de osteomielitis crónica. Criterios de exclusión: se excluyeron a los pacientes que padecieran alguno de los siguientes problemas: infección por virus de inmunodeficiencia humana, cardiopatía isquémica y neoplasia.

Análisis estadístico: los datos fueron registrados en una ficha de investigación, se analizaron mediante Chi cuadrado ( $\chi^2$ ) y se consideró  $P < 0,05$  estadísticamente significativa. Se realizaron cálculos de porcentajes simples y promedios. Se presentan los datos en tablas.

## RESULTADOS

Se revisaron un total de 282 historias de pacientes con diagnóstico de osteomielitis crónica, de las cuales se excluyeron 75 por no cumplir con los criterios del estudio, correspondiendo 93 historias al grupo A y 114 historias al grupo B.

La distribución según el sexo de los 207 pacientes incluidos fue de ciento cincuenta y uno del sexo masculino (72,95 %) y cincuenta y seis del sexo femenino (27,05 %); cuyas edades se encuentran comprendidas entre 15 - 85 años, con un promedio de 42 años para el grupo A (4,40 desviación estándar) y 43 años para el grupo B (4,10 desviación estándar), con predominio del grupo etario de 15-35 años (42,51 %).

Los métodos diagnósticos utilizados se muestran en la Tabla 1. Hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ) en la utilización de métodos diagnósticos como radiología simple y cultivos óseos en los grupos, a favor del grupo B. El método diagnóstico más empleado fue la radiología simple, en ambos grupos.

Tabla 1

Distribución según el método diagnóstico utilizado en 207 pacientes con osteomielitis crónica

Métodos Diagnósticos Nº 207	Grupo "A"		Grupo "B"		Total	P
	fi(o)	%	fi(o)	%		
Rx	77	44,25	97	55,75	174	0,0034
Biopsia	45	52,94	40	47,06	85	0,5916
Cultivo óseo	27	32,14	57	67,86	84	0,0001
Gammagrama óseo	5	27,78	13	72,22	18	ns
Tomografía computarizada	9	64,29	5	35,71	14	ns
Resonancia magnética	4	66,67	2	33,33	6	ns
Hemocultivo	3	100,00	0	00,00	3	ns
Total	170	44,27	214	55,73	384	100

Fuente: Archivos de Historias Clínicas de HUC.

El tratamiento médico quirúrgico fue realizado en setenta casos (44,03 %) del grupo A y ochenta y nueve casos (55,97 %) del grupo B, recibiendo sólo tratamiento médico veintitrés casos (47,92 %) del grupo A y veinticinco casos (52,08 %) del grupo B. No se observó diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos en relación con el tipo de tratamiento realizado. Se realizó una intervención quirúrgica en cuarenta y nueve casos (47,57 %) del grupo A, y en cincuenta y cuatro casos (52,43 %) del grupo B, dos intervenciones quirúrgicas en trece casos (37,14 %) del grupo A y en veintidós casos (62,86 %) del grupo B. No hay diferencia estadísticamente significativa entre el número de intervenciones quirúrgicas, al comparar ambos grupos (Tabla 2).

Tabla 2

Distribución según el número de intervenciones quirúrgicas en pacientes con osteomielitis crónica

Nº de intervenciones quirúrgicas	Grupo "A"		"Grupo B"		Total
	fi(o)	%	fi(o)	%	
1	49	47,57	54	52,43	103
2	13	37,14	22	62,86	35
3	5	33,33	10	66,67	15
>3	3	50,00	3	50,00	6
Total	70	44,03	89	55,97	159

El número total de intervenciones quirúrgicas fue de trescientos veintinueve, en los dos grupos, las cuales se describen en la Tabla 3. No se observa diferencia estadísticamente significativa al comparar ambos grupos. El procedimiento quirúrgico realizado con mayor frecuencia fue la limpieza quirúrgica (48,02 %) en los dos grupos. Se realizó retiro de material de osteosíntesis en veintitrés casos (6,99 %) del total de las intervenciones quirúrgicas.

De un total de 329 intervenciones quirúrgicas, se tomaron 113 muestras de tejido blando, óseo y de secreción para cultivos, durante el acto operatorio; de los cuales correspondieron treinta y cuatro casos (36,96 %) al grupo A y cincuenta y ocho casos (63,04 %) al grupo B. No se demostró diferencia estadísticamente significativa. Del total de cultivos realizados (113) encontramos que en cincuenta y ocho casos (50,88 %) se aisló un solo germen, en veintitrés casos (20,17 %) se aisló más de un germen, no hubo crecimiento bacteriano en diecinueve casos

Tabla 3

Distribución según el tipo de intervención quirúrgica realizada en pacientes con osteomielitis crónica

Tipo de intervención quirúrgica	Grupo "A"		Grupo "B"		Total
	fi(o)	%	fi(o)	%	
Cura + limpieza	71	44,94	57	55,06	158
Amputación	31	45,59	37	54,41	68
Otros	19	45,24	23	54,76	42
Retiro de material	7	30,43	16	69,57	23
Ostectomía	8	47,06	9	52,94	17
Hemidiafisectomía	4	36,36	7	63,64	11
Fistulectomía	3	30,00	7	70,00	10
Total	143	43,47	186	56,53	329

Fuente: Archivos de Historias Clínicas de HUC.

(\*) Transportación ósea, fasciotomía, artrodesis, artrotomía, corticotomía, osteotomía, injertos, laminectomía.

(16,67 %) y no se reportaron los datos en la historia clínica en trece casos (12,28 %).

*Staphylococcus aureus* fue la bacteria aislada con mayor frecuencia en ambos grupos, con un total de catorce casos, seguida de *Staphylococcus coagulasa* negativo y *Pseudomonas aeruginosa*. Se obtuvieron dos cultivos positivos para Blastosporas (Tabla 4). No hay diferencia estadísticamente significativa, en el tipo de microorganismo identificado al comparar ambos grupos.

Los antibióticos con mayor prescripción fueron las cefalosporinas de primera generación, con predominio en el grupo B, apreciándose que existe diferencia estadística significativa entre los dos grupos. La combinación antimicrobiana más empleada fue cefalosporinas de primera generación con aminoglicósidos en ambos grupos.

La duración de la terapia antimicrobiana fue de un máximo de doscientos quince días y un mínimo de un día, el promedio de la duración de la terapia antimicrobiana para el grupo A fue de 35 días (3,05 desviación estándar) y para el grupo B fue de 37 días (2,94 desviación estándar), el promedio del número de antibióticos utilizados en cada paciente fue de 3.

La duración de la terapia antimicrobiana en cincuenta y dos casos (43,70 %) del grupo A y sesenta y siete casos (56,30 %) del grupo B, estuvo distribuida entre 1-20 días; cincuenta y un pacientes del grupo A y sesenta y dos del grupo B, recibieron más de 6 semanas de tratamiento. No se observó diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 4

Aislamiento microbiológico en los cultivos óseos

Gérmenes	Grupo "A"		Grupo "B"		Total
	fi(o)	%	fi(o)	%	
<i>S. aureus</i>	6	42,86	8	57,14	14
<i>S. coagulasa</i> negativo	1	9,09	10	90,91	11
<i>P. aeruginosa</i>	3	42,86	4	57,14	7
<i>Mycobacteria</i>	3	75,00	1	25,00	4
<i>Enterococcus</i>	1	25,00	3	75,00	4
<i>A. baumannii</i>	0	0,00	4	100,00	4
<i>P. mirabilis</i>	0	0,00	2	100,00	2
<i>E. coli</i>	1	50,00	1	50,00	2
<i>Blastosporas</i>	2	100,00	0	0,00	2
<i>Bacilo subtilis</i>	1	100,00	0	0,00	1
<i>S. marcescens</i>	0	0,00	1	100,00	1
<i>S. alfa hemolítico</i>	1	100,00	0	0,00	1
<i>P. vulgaris</i>	1	100,00	0	0,00	1
<i>K. pneumoniae</i>	1	100,00	0	0,00	1
<i>K. oxytoca</i>	0	0,00	1	100,00	1
<i>E. cloacae</i>	1	100,00	0	0,00	1
<i>E. agglomerans</i>	0	0,00	1	100,00	1
Total	22	37,93	36	62,07	58

Fuente: Archivos de Historias Clínica de HUC.

El tiempo transcurrido desde el diagnóstico de osteomielitis crónica hasta la realización de la primera intervención quirúrgica fue de 1 semana, en veintinueve casos (44,62 %) del grupo A y en treinta y seis casos (55,38 %) del grupo B, más de 3 semanas en veintiséis casos (41,94 %) del grupo A y treinta y seis casos (58,06 %) del grupo B. No hubo diferencia estadísticamente significativa (Tabla 5).

Tabla 5

Distribución según el tiempo transcurrido desde el diagnóstico de osteomielitis crónica hasta la intervención quirúrgica

Semanas	Grupo "A"		Grupo "B"		Total
	fi(o)	%	fi(o)	%	
1	29	44,62	36	56,38	65
2	7	43,75	9	58,25	16
3	8	50,00	16		
> 3	26	41,94	36	58,06	62
Total	70	44,03	89	55,97	159

Fuente: Archivos de Historias Clínicas de HUC.

El número de hospitalizaciones se distribuyó de la siguiente manera, una hospitalización en sesenta y ocho casos (47,22 %) del grupo A y setenta y seis casos (52,78 %) del grupo B; cuarenta y un pacientes del grupo A y cincuenta

y tres del grupo B ameritaron más de dos hospitalizaciones. No hay diferencia estadísticamente significativa.

Con relación al tiempo de hospitalización, se encontró que ochenta y tres casos (43,92 %) del grupo A y ciento seis casos (56,08 %) del grupo B, permanecieron hospitalizados por 45 días, sólo dos casos (66,67 %) del grupo A y un caso (33,33 %) del grupo B, requirió más de 205 días de hospitalización. No se observó diferencia estadísticamente significativa al comparar ambos grupos.

El tiempo de permanencia en la institución osciló desde dos días hasta doscientos cuarenta y cinco días, con un promedio de estancia hospitalaria de 46 días para el grupo A (3,99 desviación estándar) y 47 días para el grupo B (3,57 desviación estándar).

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, en cuanto a la distribución por sexo y grupo etario, son similares a los reportados en la literatura.

El estudio diagnóstico que se realiza con más frecuencia es la radiología simple, por su bajo costo, accesibilidad. Llama la atención que aunque la radiología simple es un auxiliar diagnóstico importante, la misma no se realizó en treinta y tres pacientes (15,94 %); esto pudo obedecer a limitaciones técnicas, deficiencia en los materiales necesarios para su realización; o que simplemente no se registraron los hallazgos pertinentes en las historias clínicas. Los otros métodos diagnósticos fueron realizados en una baja proporción, probablemente por su elevado costo.

Durante los últimos tres años del estudio, se produjo una mayor utilización de métodos diagnósticos como radiología simple y cultivos óseos, lo que se traduce en un mejor rendimiento diagnóstico de esta entidad clínica. *Staphylococcus aureus* persiste como el germen más frecuente en todo tipo de osteomielitis (1,7, 10,11,36,37). El agente etiológico de la osteomielitis bacteriana en nuestra serie de cincuenta y ocho cultivos con crecimiento monomicrobiano fue *Staphylococcus aureus* en ambos grupos, seguido de *Staphylococcus coagulasa* negativo y de *Pseudomonas aeruginosa*. En el 20,35 % de los casos estaba presente más de una bacteria en el hueso o en un absceso contiguo similar a lo descrito en la literatura, donde se reporta hasta un 21 % de infecciones polimicrobianas en algunas series (1,38,39). Puche en el Hospital Universitario de

Caracas, revisó 100 casos de osteomielitis entre los años 1976-1986, reportando un 47 % de cultivos positivos para *Staphylococcus aureus* y cultivos polimicrobianos en 12,2 % (40). En el estudio realizado por Guerrero se evaluaron trescientos cuatro pacientes encontrando un 47 % de cultivos positivos para *Staphylococcus aureus* y 6 % para *Pseudomonas aeruginosa*.

El tratamiento efectivo para la osteomielitis crónica es el debridamiento quirúrgico acompañado de terapia antimicrobiana dirigida a los agentes infecciosos aislados en los cultivos óseos (41-43). En el presente estudio se encontró que el tratamiento combinado médico-quirúrgico se realizó en sólo 159 de los 207 pacientes y que del total de 329 intervenciones realizadas sólo 158 fueron limpiezas quirúrgicas, lo que refleja un tratamiento no óptimo de esta entidad clínica. Hallazgos similares a los reportados por Puche (40).

El estudio más importante para el establecimiento del diagnóstico etiológico es el cultivo de muestras óseas tomadas durante el acto quirúrgico, lo cual fue establecido por Mackowiak desde el año 1978 (20,44) evidenciándose en nuestro estudio que sólo se tomaron un total de 84 muestras óseas, durante las 329 intervenciones quirúrgicas realizadas, lo que dificulta el diagnóstico etiológico y posiblemente pueda conducir a una falla terapéutica, por no emplearse antibióticos específicos dirigidos al agente causal. Estos resultados son similares a los reportados por Puche y contrastan con los obtenidos en el estudio del Hospital Ramón y Cajal, Madrid, donde se estudiaron 304 casos y 304 muestras óseas y en el estudio del Hospital San Vicente de Paúl, Medellín que estudió 320 casos y 415 muestras óseas. En sesenta y ocho casos (49,06 %) del presente estudio, se realizó tratamiento intravenoso específico, basado en pruebas de sensibilidad *in vitro* de los microorganismos aislados de cultivos de muestras óseas o de secreción obtenida durante la intervención quirúrgica, apreciándose un alto porcentaje de tratamiento lo antimicrobiano sin diagnóstico microbiológico. Aunque no encontramos estudios comparativos que indiquen el tiempo óptimo de hospitalización, 832 en la literatura se describe que lo ideal es un tiempo corto de espera para la realización de la intervención quirúrgica y un tratamiento antimicrobiano intravenoso inicial de 4 a 6 semanas, proponiéndose períodos de tratamiento de hasta 1-2 semanas intrahospitalaria seguido de terapia intravenosa ambulatoria, hasta finalizar el tratamiento, para disminuir el tiempo de hospitalización

(3,24,27,31). En este estudio se observó un promedio de estancia hospitalaria de 46 días y un porcentaje importante de pacientes (30,44 %) que ameritaron más de dos ingresos, lo que genera grandes gastos a la institución.

En cuanto a la duración de la terapia antimicrobiana, la literatura señala que debe mantenerse durante 4 a 8 semanas, aunque se han descrito períodos más prolongados, con una fase de tratamiento inicial intravenoso seguido de terapia por vía oral (45-48). En nuestro estudio fue difícil precisar el tiempo exacto de duración del tratamiento antimicrobiano, ya que pudimos establecer el tiempo de la terapia intrahospitalaria, pero no así el tiempo de tratamiento posterior al egreso de la institución, debido a la falta de reportes en las historias clínicas y a un inadecuado seguimiento de los pacientes.

En los estudios revisados se establece que el tratamiento antimicrobiano debe iniciarse al tener los resultados microbiológicos para optimizar los resultados, sin embargo, algunos estudios señalan que dependiendo de las condiciones del paciente, el tratamiento pudiera iniciarse inmediatamente después de la cirugía y la toma de las muestras para cultivos y posteriormente ajustarse según los reportes microbiológicos, requiriéndose al menos un cambio de esquema de antibióticos (3,8,10,28,49,50). En este estudio observamos que a la mayoría de los pacientes (66,67 %) se les realizó dos o más cambios de esquemas de antibióticos aumentando con ello los costos hospitalarios y favoreciendo la aparición de gérmenes multirresistentes. La combinación de antibióticos más empleada fue cefalotina con aminoglicósidos, seguida de clindamicina más quinolonas, lo que no se ha modificado en los últimos 17 años (1,39,51).

Observamos un 40,22 % de recaídas (37 casos) y un alto número de resoluciones quirúrgicas radicales como amputaciones (68 casos, que corresponde al 20,67 %); quizás este elevado número de amputaciones pueda deberse a que en el momento del diagnóstico estaba indicado, a un debridamiento quirúrgico inapropiado, falla durante la toma de las muestras para cultivos y/o a una terapia antimicrobiana no dirigida a los gérmenes implicados, por lo que no se logra controlar la infección.

Pese a los avances obtenidos desde el punto de vista de diagnóstico (4,52-54) y terapéutico (13,44,55-57) la osteomielitis crónica continúa siendo una enfermedad con una alta morbilidad, una lenta resolución, con muchas dificultades en el diagnóstico y tratamiento (32). Esto puede deberse a un bajo índice de sospecha que conduce a un diagnóstico tardío y por ende a retraso

en el inicio del tratamiento, que sumado a las dificultades económicas del país y de las instituciones; generan mayor número de complicaciones, resoluciones radicales como amputaciones y un pronóstico sombrío.

## CONCLUSIONES

Con todos los avances técnicos, en cuanto a métodos diagnósticos, procedimientos quirúrgicos y el desarrollo de nuevos antibióticos, apreciamos que en el transcurso de los últimos 6 años no se ha modificado sustancialmente, el tratamiento de la osteomielitis crónica y continúa siendo causa de un alto número de hospitalizaciones, estancias hospitalarias prolongadas, elevado número de intervenciones quirúrgicas y utilización inapropiada de los antimicrobianos, además de un elevado porcentaje de recaídas y amputaciones, que incide dramáticamente en la calidad de vida del paciente y en los gastos hospitalarios. En los últimos 3 años hubo una mejor utilización de algunos recursos diagnósticos (radiología simple y cultivos óseos); sin embargo, esto no influyó en los resultados finales obtenidos, lo que nos indica que no existe una evolución adecuada en el tratamiento de la osteomielitis crónica, evidenciándose un elevado número de pacientes a los cuales no se les realiza limpieza quirúrgica y no se les toma muestras óseas para cultivo durante el acto quirúrgico, con una utilización importante de terapia antimicrobiana empírica, lo que dificulta la realización de un tratamiento óptimo; además se aprecia un inadecuado seguimiento de los pacientes y una falla en los reportes de los estudios y procedimientos en las historias clínicas, que imposibilitan la determinación del tiempo total de tratamiento y el estado del paciente al momento del egreso o al culminar el tratamiento.

Queremos resaltar la necesidad de mejorar el tratamiento de la osteomielitis crónica para disminuir la alta morbilidad, el porcentaje de recaídas, amputaciones y secuelas permanentes que generan incapacidad laboral y que deterioran la calidad de vida del paciente, además de reducir el número de ingresos, intervenciones quirúrgicas, el tiempo de hospitalización y la utilización inapropiada de antimicrobianos; lo que se traduce en disminución de los costos de atención hospitalaria.

## REFERENCIAS

1. Guerrero EA. Artritis infecciosa y osteomielitis. *Medicine (Barc)*. 1987;3265-3270.

2. Kattapuram TM, Treat ME, Kattapuram SV. Magnetic resonance imaging of bone and soft tissue infections. *Current Clin Topics in Inf Dis.* 2001;190-226.
3. Carek PJ, Dickerson LM, Sack JL. Diagnosis and management of osteomyelitis, *American Family Physician.* 2001;(63).
4. Nawaz K.A. Osteomyelitis, chronic. *Medicine.* Mar. 2004;2.
5. Mader JT, Shirliff M, Calhoun JF. Staging and staging application in osteomyelitis. *Clin Infect Dis.* 1997;(25):1303-1309.
6. Cole W.G. The management of chronic osteomyelitis. *Trop Geogr Med.* 1998;40(2):139-142.
7. Lew DP, Waldogel FA. Osteomyelitis. *N Engl Med.* 1997;336:999-1007.
8. Rodríguez MJ, Palomino J, Jiménez ME, Pachón J. Osteomielitis en pacientes no inmunocomprometidos. Aspectos etiológicos, clínicos y terapéuticos. *Medicine.* 1998;7(75):3492-3499.
9. Gillespie WJ. Epidemiology in bone and joint infection. *Infect. Dis Clin North Am.* 1990;(4):361-377.
10. Dirschl RD, Almekinders LC. Osteomyelitis. Common causes and treatment recommendations. *Drugs.* 1993;45(1):29-43.
11. Waldogel FA, Medoff G, Swartz MM. Osteomyelitis: A review of clinical features, therapeutic considerations and unusual aspects. *N Engl Med.* 1970;282:198-322.
12. Gottlieb T, Atkins BL, Shaw DR. Soft tissue, bone and joint infections. *MJA.* 2002;176(12):609-615.
13. Ahmad BE. Osteomielitis. *Medicine.* August. 29, 2003.
14. Hass DW, Mc Andrew MP. Bacterial osteomyelitis in adults: Evolving considerations in diagnosis and treatment. *Am J Med.* 1996;101(5):550-561.
15. Schauwecker PS, Braunstein EM, Wheat LJ. Diagnostic imaging of osteomyelitis. *Infect Dis Clin North Am.* 1990; 4:441-463.
16. Randall R. Osteomyelitis. *Med J.* 2002;3(4).
17. Ray PS, Simonis RB. Management of acute and chronic osteomielitis. *Clin Orthop.* 1994;298:229-239.
18. Bamberger DM. Osteomyelitis a commonsense approach to antibiotic and surgical treatment. *Postgrad Med.* 1993;94(5):177-82, 184.
19. Costa ML, Ingham C, Seddon 1, Shanker S. Squamous cell carcinoma complicating chronic osteomyelitis. *Orthop Oncol.* 2004;(4):4-6.
20. Zuluaga AF, Galvis W, Jaimes F, Vesga LO. Lack of microbiological concordance between bone and non-bone specimens in chronic osteomyelitis: An observational study. *B.M.C. Infect Dis.* 2002;(2):8.
21. Lipsky B.A. Osteomyelitis of the foot in diabetic patients. *Clin Infect Dis.* 1997;(25):1318-1326.
22. Rissing JP. Antimicrobial therapy for chronic osteomielitis in adults: Rol of the quinolones. *Clin Infect Dis.* 1997;25:1327-1333.
23. Testworth K, Cierny G. Osteomyelitis debridement techniques. *Clin Orthop.* 1999;(360):87-96.
24. Kim SG, Janz HS. Treatment of chronic osteomyelitis in Korea. *J Reconstr Microsurg.* 1999;239-244.
25. Walenkamp GH, van Roermund PM, van Horn JR. One hundred years of orthopedics in the Netherlands. IX. The treatment of chronic osteomyelitis. *Clin Orthop.* 1991;(264):84-89.
26. Medoff O. Infections in bones and joints. *N Engl Med.* 1995;332:615-616.
27. Gualdrini G, Barchetti M, Trono M, Palumbi P. Intramedullary reaming in the treatment of chronic osteomyelitis of the femur and tibia. *Croat. Med J.* 2002;43(3):346-349.
28. Eakardt JJ, Wirganowicz PA, Mar T. An aggressive surgical approach to the management of chronic osteomyelitis. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 1998;142(20):1124-1130.
29. Musharafieh R, Osmari O, Musharafieh S, Atiyeh B. Efficacy of microsurgical free-tissue transfer in the chronic osteomyelitis of the leg and foot: Review of 22 cases. *Acta Orthop. Belg.* 2001;65(4):380-560.
30. Bamberger DM. Osteomyelitis. A commonsense approach to antibiotic and surgical treatment. *Chir. Narzadow Ruch. Orthop Pol.* 1995;60(5):415-418.
31. Anthony JP, Mathes SJ. Update on chronic osteomyelitis. *Rey Chir Orthop. Reparatrice Appar Mot.* 2001;87(3):248-256.
32. Crémieux AC, Carbon C. Experimental models of bone and prosthetic joint infections. *Clin Infect Dis.* 1997;25 1295-1302.
33. Cunha BA. Diabetic foot infections. *Medicine.* 2004.
34. Mader JT, Shirliff ME, Bergquist SC, Calhoun 3. Antimicrobial treatment of chronic osteomyelitis. *Clin Orthop.* 1999;(360):47-65.
35. Swiontkowskt MF, Hanel DP, Vedder NB, Schwappach JR. A comparison of short and long-term intravenous antibiotic therapy in the postoperative management of adult osteomyelitis. *J Bone Joint Surg Br.* 1999;81(6):1046-1050.
36. Gentry LO. Antibiotic therapy for osteomyelitis. *Infect Dis Clin North Am.* 1990;4(3):485-499.
37. Javaloyas M, Monreal PM. Oral antibiotic therapy in the adult bacterial osteomyelitis: Results after two years of follow up. *Med Clin Barc.* 1999;113(13):488-489.
38. Guerrero A. Osteomielitis: Estudio Clínico y experimental Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid, 1987.
39. Pichicero ME, Friesen HA. Polymicrobial osteomyelitis report of three cases and review of literature. *Rev Infect Dis.* 1982;4:86-96.
40. Puche FD. Osteomielitis en el Hospital Universitario de Caracas. Estudio de 100 casos y revisión de la literatura. Tesis de Grado 1987.
41. Hendrickx L, Van Wijngaerden E, Samson 1, Peetermans WE. Candidal vertebral osteomyelitis: Report of 6 patients and review. *Clin Infect Dis.* 2002;32:527-533.
42. McCullers JA, Flynn PM. Candida tropicalis osteomyelitis: Case report and review. *Clin Infect Dis.* 1998;26:1000-1001.
43. Chan EK, Kong PM, Fennelly K, Dwyer A, Iseman M.D. Vertebral osteomyelitis due to infection with nontuberculous mycobacterium species after blunt trauma to the back: 3 examples of the principle of Locus Minoris Resistentiae. *Clin Infect Dis.* 2001;32:1506-1510.
44. Mackowiak PA, Jones SR, Smith JW. Diagnostic value of sinus-tract cultures in chronic osteomyelitis. *JAMA.* 1978;239:2772-2775.
45. Shuford JA, Steckelberg JM. Role of oral antimicrobial therapy in the management of osteomyelitis. *Curr Opin Infect Dis.* 2003;16(6):515-519.
46. Mader J,T, Cantreil JS, Calhoun J. Oral ciprofloxacin compared with standard therapy for chronic osteomyelitis in adults. *Bone Joint Surg Am.* 1990;72A:104-110.
47. Gentry LO, Rodriguez GG. Oral ciprofloxacin compared with parenteral antibiotics in the treatment of osteomyelitis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990;34:40-43.

48. Gentry LO, Rodriguez GG. Oral Ofloxacin versus parenteral therapy for chronic osteomyelitis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35:538-541.
49. Mader JT, Norden C, Nelson TD, Calandra GB. Evaluation of new anti infective drugs for the treatment of osteomyelitis in adults. *Clin Infect Dis.* 1992;15(Suppl 1):155-161.
50. Panda M, Ntungila N, Kalunda M, Flinsenkamp M. Treatment of chronic osteomyelitis using the papineau technique. *Int Orthop.* 1998;22(1):37-40.
51. Gentry LO. Role of newer betalactam antibiotics in treatment of osteomyelitis. *Am J Med.* 1985;78(6A):134-139.
52. Meller J, Koster G, Liersch T. Chronic bacterial osteomyelitis: Prospective comparison of (18) F-FDG imaging with a dual-head coincidence camera and (111) In-labelled autologous leucocyte scintigraphy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2002;29(1):53-60.
53. Zuang FI, Alavi A. 18-fluorodeoxyglucose positron emission tomographic imaging in the detection and monitoring of infection and inflammation. *Semin Nucl Med.* 2002;32(1):47-49.
54. Zuang FI, Duarte PS, Pourdehand M. Exclusion of chronic osteomyelitis F-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomographic imaging. *Clin Nucl Med.* 2000;25(4):281-284.
55. Ciprofloxacin, lomefloxacin or levofloxacin as treatment for chronic osteomyelitis. *Antimicrob. Agentes Chemother.* 2000;44(1):164-166.
56. Patel R, Piper KE, Rouse MS, Stteckelberg JM. Linezolid therapy of *Staphylococcus aureus* experimental osteomyelitis. *Agents and Chemother.* 2000;44(12):3438-3440.
57. Atkins RM, Madhavan P, Sudhakar J, Whiwell D. Ipsilateral vascularised fibular transpon for massive defects of the tibia. *J Bone Joint Surg. Br.* 1999;81(6):1035-1040.

# Aislamiento de plásmidos conjugativos en cepas de enterobacterias productoras de $\beta$ -lactamasas de espectro expandido

M Benítez<sup>1</sup>, M Domínguez<sup>1</sup>, L Torres<sup>2</sup>, G Vilchez<sup>3</sup>, R Pedroza<sup>4</sup>

## RESUMEN

Las  $\beta$ -lactamasas de espectro expandido son enzimas capaces de hidrolizar el enlace amida de los oximino  $\beta$ -lactámicos, (cefotaxime, ceftazidime y aztreonam). Las mismas son codificadas en plásmidos y por lo tanto pueden ser transferidas mediante conjugación a diversos géneros bacterianos. Diseminándose ampliamente en el ambiente hospitalario. En esta investigación se persigue, en cepas de enterobacterias aislar plásmidos que codifican para  $\beta$ -lactamasas de espectro expandido y que sean capaces de transferirse mediante conjugación. Se estudio una población de 51 enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro expandido aisladas de diferentes centros hospitalarios del área Metropolitana de Caracas. A las mismas se le determinó el perfil de resistencia a múltiples antibióticos mediante la metodología de Kirby-Bauer. Se detectaron las BLEE mediante dos ensayos fenotípicos basados en el efecto sinérgico con el ácido clavulánico y se tipificaron molecularmente por PCRIRFLP, seguidamente se transfirieron los plásmidos conjugativos en ensayos de conjugación en medio sólido y se aislaron los plásmidos de cepas donantes y transconjugantes, por el método de lisis alcalina. Los resultados fenotípicos indican una mayor proporción de BLEE con actividad ceftazidimasa y en menor grado actividad cefotaximasa. La tipificación molecular indicó que 60,8 % de las cepas portan genes tipo SHV y 15,6 % codifican  $\beta$ -lactamasas de espectro expandido de la familia CTX-M. De 36 cepas conjugadas un 81 %

transfirió material plasmídico. El análisis de los aislamientos plasmídicos mostró la presencia en la totalidad de las transconjugantes de una banda de 25 000 pb y en un 80 % se evidenció una banda plasmídica mayor a 50 000 pb. Se pudo constatar la cotransferencia de resistencia a otras familias de antibióticos.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad los  $\beta$ -lactámicos, siguen constituyendo una de las mejores opciones terapéuticas, para contrarrestar procesos infecciosos producidos por diversos géneros bacterianos. Estos actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular, estructura única y fundamental de las bacterias.

Los genes que codifican las  $\beta$ -lactamasas pueden residir en el cromosoma bacteriano o en plásmidos. Estas últimas de mayor relevancia porque pueden ser transferidas a diversos géneros bacterianos.

Las  $\beta$ -lactamasas más comunes, entre los bacilos gramnegativos son las tipos TEM-1, TEM-2 y SHV-1, llamadas  $\beta$ -lactamasas de espectro ampliado (BLEA), debido a que presentan un perfil de hidrólisis reducido a algunas penicilinas (ampicilina, amoxicilina, carbemcilina, ticarcilina) y a algunas cefalosporinas de primera y segunda generación.

En los últimos años se ha generado un incremento en el uso clínico de los oximino  $\beta$ -lactámicos, particularmente cefotaxime y ceftazidime. Ninguna de estas cefalosporinas de tercera generación era hidrolizada por las BLEA (TEM-1, TEM-2 o SHV-1). A mediados de los años 80 surgieron cepas mutantes, que presentaban un espectro incrementado de actividad hidrolítica, especialmente contra las cefalosporinas de espectro expandido y al aztreonain, se denominaron  $\beta$ -lactamasas de espectro expandido (BLEE).

<sup>1</sup> Internado Rotatorio. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina.

<sup>2</sup> Cátedra de Microbiología. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina.

<sup>3</sup> Cátedra de Bioquímica. Escuela de Medicina "Luis Razetti". Facultad de Medicina.

<sup>4</sup> Sección de Diagnóstico Molecular de Agentes Infecciosos. Instituto de Medicina Experimental. Facultad de Medicina Experimental. Universidad Central de Venezuela. Caracas Venezuela (itorrescastillo@cantv.net).

La mayoría de las BLEE que están diseminadas a nivel mundial son derivadas de las BLEA tipo TEMy SHV, con una o más sustituciones de amino ácidos alrededor de su sitio activo, lo que explica la extensión de su perfil de hidrólisis (Medeiros, 1997). Además de estas BLEE, existen otras que presentan una escasa relación estructural y no son derivadas de TEM y SHV.

La movilización y estabilización de genes de resistencia a antibióticos ha sido conducida por los mecanismos de transferencia horizontal de la información genética. Principalmente a través de la conjugación (Davies, 1996; Amábile-Cuevas, 1995; Arnábile-Cuevas y Chicurel, 1992). Un proceso mediante el cual una célula (donante) le transfiere ADN a una segunda célula (receptora) con la cual a entrado en contacto. Este mecanismo esta mediado por plásmidos conjugativos, que contienen toda la información genética necesaria para promover su propia transferencia (Amábile-Cuevas, 1995).

Plásmidos transmisibles y/o trausposones permiten el intercambio de gran cantidad de información genética entre especies poco relacionadas e inclusive entre diferentes reinos, lo que aumenta la posibilidad que estos determinantes de resistencia sean transferidos a importante géneros patógenos. Representando el medio más común para adquirir determinantes de resistencia a agentes antimicrobianos.

Los plásmidos, son moléculas de ADN de doble cadena, extracromosómicos y generalmente circulares. Los genes plasmídicos confieren ventajas selectivas bajo ciertas condiciones. Los productos de los genes codificados por plásmidos incluyen enzimas para la utilización inusual de fuentes de carbono como el tolueno, resistencia a sustancias como metales pesados, resistencia a múltiples antibióticos y síntesis de toxinas y proteínas que permiten la infección exitosa de múltiples organismos. En esta investigación se pretendió evidenciar la presencia de BLEE en enterobacterias aisladas de diversas fuentes biológicas y provenientes de diferentes centros hospitalarios, asociadas a plásmidos que tienen la capacidad de transferirse *in vitro*. De esta manera pudimos demostrar, que diferentes genes que codifican para BLEE, se pueden diseminar con una alta frecuencia entre diferentes especies bacterianas, en los diferentes servicios de hospitalización que conforman el ambiente hospitalario de algunos Centros del Área Metropolitana de Caracas.

## METODOLOGÍA

### Muestra

La población estudiada está conformada por 51 cepas de Enterobacterias, aisladas de diversos tipos de muestras, en los servicios de hospitalización (UCI, UCIN, Cirugía. Medicina y Traumatología) de los siguientes centros hospitalarios del área metropolitana: Hospital "José Gregorio Hernández" (23). Policlínica Metropolitana (6), Maternidad "Concepción Palacios" (5). Hospital Militar "Dr. Carlos Arvelo" (2), Instituto Clínico "La Floresta" (2), Hospital de Clínicas Caracas (12), Hospital de Niños "J. M. de Los Ríos" (1).

### Ensayos de susceptibilidad antimicrobiana

Para evaluar el patrón fenotípico de susceptibilidad de las enterobacterias en estudio y sus respectivas transconjugantes, se llevó a cabo la metodología de Kirby-Bauer recomendada por la NCCLS 2004 determinando el perfil de resistencia a los siguientes antibióticos: amikacina (Ak), gentamicina (Ge), ciprofloxacina (Cip), trimetropin/sulfametoxazol (Sxt), piperacilina/tazobactam (Tzp), amoxicilina/clavulánico (Amc). Cefoxitina (Fox), aztreonam (Atrn). Ceflazidime (Caz), cefotaxime (Cix). Cefepime (Fep), meropenem (Mem), imipenem (Imp).

Los controles de calidad utilizados fueron: *Escherichia coli* ATCC 25922. *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

### Detección fenotípica de $\beta$ -lactamasas de espectro expandido (BLEE)

La detección fenotípica de BLEE en las cepas de enterobacterias provenientes de los diversos centros hospitalarios y sus correspondientes transconjugantes, se realizó por 2 métodos. Ambos basados en el efecto sinérgico entre cefalosporinas de espectro expandido y el ácido clavulánico.

1. Método de doble difusión en disco (Jarlier, 1989): utilizando cefalosporinas de espectro expandido (ceflazidime, cefotaxime, aztreonam, cefepime, cefodoxime) alrededor de un disco de amoxicilina clavulánico.
2. Método de detección de BLEE recomendado por la NCCLS 2004. Utilizando cefalosporinas de tercera generación (ceftazidime, cefotaxime) y la misma cefalosporina combinada con ácido clavulánico.

**Detección molecular de BLEE mediante ensayos de 1Ry R-RFLP**

Para realizar el PCR para detección de BLEE se trabajó según el esquema de Chanawong y col. (2000), utilizando células bacterianas completas. Los iniciadores utilizados para la detección de BLEE son mostrados en la Tabla 1.

El protocolo utilizado para la reacción de PCR fue el siguiente: 4 mm a 95 Oc., 30 ciclos de 1 mm a 94° C (desnaturalización), 1V2 min. A 55° C (alineamiento), 1 mm a 72° C (polimerización), y una extensión final de 10 mm a 75° C. Los reactivos utilizados y los volúmenes están enumerados en la Tabla 2.

Los productos de amplificación fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,2 %. Se utilizó el marcador de PM ladder 100 pb. El control positivo para BLEE tipo SHV: *K. pneumoniae* M4 740. Para BLEE tipo TEM: *E. coli* M-3195. Para BLEE tipo CTX-M: *K pneumoniae* M1803. El control negativo: *E. coli* ATCC 25922. Todas las cepas controles positivos fueron donadas por el Dr. Marcelo Galas del Instituto de Enfermedades Infecciosas-ANLIS. Buenos Aires-Argentina.

La caracterización de BLEE se llevó a cabo mediante la combinación de 2 técnicas de biología molecular (reacción en cadena de la polimerasa y análisis de polimorfismo mediante el uso de enzimas de restricción).

Una vez obtenido el producto de amplificación de un gen codificante para β-lactamasas. Se procedió a utilizar enzimas que cortan el ADN en sitios específicos. Este procedimiento permitió obtener diversos fragmentos de ADN amplificado con longitudes específicas, los cuales fueron separados y comparados con patrones establecidos, lográndose determinar que el producto de amplificación correspondía a una BLEE derivada de SHV y/o TEM.

Tabla 2

Reactivos y volúmenes utilizados en la reacción de PCR

Reactivos	Volúmenes
Buffer PCR 10X	2,5 µL
MgCl2 25 mM	2 µL
dNTPs 10 mM*	1 µL
Iniciador 1 100 mM	1 µL
Iniciador 2 100 mM	1 µL
Mezcla de H <sub>2</sub> Offaq Polimerasa**	16,5 µL
Suspensión celular	1 µL
Volumen final	25 µL

\* Solución 10 mM para adenina, timina, citosina y guanina.  
\*\* Mezcla: 0,2 pi de Taq Polimerasa y 16,3 il de agua.

**Transferencia plasmídica de genes que codifican para BLEE**

La transferencia de plásmidos que codifican para BLEE se llevó a cabo mediante ensayos de conjugación bacteriana en medio sólido, Las cepas donantes corresponden a un número de 36 cepas de enterobacterias que poseían los marcadores fenotípicos adecuados para dicho ensayo, es decir, presentaban sensibilidad a rifampicina y/o ácido salicílico. La cepa receptora de plásmidos conjugativos fue la *Escherichia coli* K-12 NCTC50 170, RC-71 1 rif (donada por el CVCM). La selección de cepas transconjugantes fue realizada en placas de medio agar Luria-Bertam (agar LB) suplementadas con rifampicina (40 µg/mL) y ampicilina (30 µg/mL) y una segunda placa de agar LB suplementadas con rifampicina (40 µg/mL) y ceflazidime o cefotaxime (10 µg/mL).

**Aislamiento plasmídico**

Para el aislamiento de plásmidos se utilizó el método de lisis alcalina, empleando polietilenglicol y cloruro de litio (Bimboin y Doly, 1979). En el caso de cepas transconjugantes se utilizó

Tabla 1

Secuencia de iniciadores para tipificación de BLEE.

Iniciador No.	Nombre	Secuencia (5'- 3')
1	SHV	TCAGCGAAAACTG (Yuk-Fong y col., 1998)
2	SHV	TCCCGCAGATAAATCACCA (Yuk-Fong y col., 1998)
3	TEM:Mab F	GGGGAGCTCATAAAATfCTGAAGAC (Mabilat y col., 1990)
4	TEM:Mab R	GGGGGATCCTFACCAATGQTAATCA (Mabilat y col., 1990)
5	CTX-M-2F	ATGATGACTCAGAGCATCG (Bauemfeind y col., 1996)
6	CTX-M-2R	TATTGCATCAGAAACCGTG (Bauernfeind y col., 1996)
7	CTX-M-1OF	GCAGCACCAGTAAAGTGATGG (Oliver y col., 1991)
8	CTX-M-1OR	GCAATATCGTI'GGTGGTACC (Oliver y col., 1991)

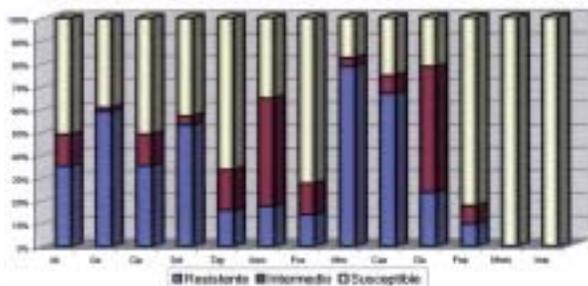
la técnica a mediana escala empleando cultivo celular de 50 mL. Para los aislamientos de cepas donantes se utilizó la técnica a pequeña escala (MINWREPS) empleando un cultivo celular de 5 mL. Ambos cultivos con 24 horas de crecimiento en agitación a 37° C.

El aislamiento plasmídico fue visualizado mediante electroforesis en gel de agarosa al 0,6 %. Se utilizó el marcador de peso molecular del bacteriófago Lambda Hind III.

## RESULTADOS

### Ensayos de susceptibilidad antimicrobiana

La identificación y susceptibilidad de las cepas utilizadas fueron confirmadas en la Cátedra de Microbiología Escuela de Bioanálisis UCV. Los resultados obtenidos, considerando todas las Instituciones Hospitalarias, son mostrados en la Figura 1.



AK: amikacina; Ge: gentamicina; Cip: ciprofloxacina; SXT: trimetropin/sulfametoxazol; TzP: piperacilina/tazobactam; AMC: amoxicilina/clavulánico; FOX: cefoxitin, ATM: aztreonam; CAZ: ceftazidime; CTX: cefotaxime; Fep: cefepime; Mem: meropenem; Imp: imipenem.

Figura 1. Patrón de susceptibilidad a 13 antimicrobianos en cepas de enterobacterias.

Estos datos muestran que el 100 % de las cepas en estudio son sensibles a carba-penémicos, tanto imipenem como meropenem, mientras que un alto porcentaje (casi el 80 %) son resistentes a monobactámicos (aztreonam) y a ceflazidime demostrando ser altamente eficaces en la hidrólisis de ambas drogas. Un porcentaje menor demostró ser resistentes a cefotaxime (menos del 25 %), sin embargo, es importante destacar que un 54 % de las cepas presenta susceptibilidad intermedia a esta droga.

Para el caso de cefepime los niveles de resistencia y de susceptibilidad intermedia son bajos, 9,6 % y 7,6 % respectivamente. Sin embargo, según lo establecido por la NCCLS, la detección de BLEE implica un reporte de resistencia a todas las cefalosporinas aunque arrojen valores de sensibilidad *in vitro*.

La resistencia aminoglicósidos fue variable obteniéndose un 34 % para amikacina y un 58 % para gentamicina. En el caso del trimetropim/sulfametoxazol se encontró un 51,9 % de resistencia y para la ciprofoloxacina un valor medio de 36,5 % de resistencia.

### Detección fenotípica y molecular de BLEE

De las 51 cepas incluidas en este estudio el 100 % de las mismas presentan efecto sinérgico (efecto huevo) entre alguna de las cefalosporinas detectoras y amoxicilina/clavulánico (Figura 2) detección realizada por el método de doble difusión en disco. Mediante la realización del método recomendado por la NCCLS para detección de BLEE, empleando la combinación ceftazidime/clavulánico 49 cepas fueron productoras de BLEE, mientras que usando la combinación cefotaxime/clavulánico se observó efecto sinérgico en 50 cepas (96,15 %) (Tabla 3).

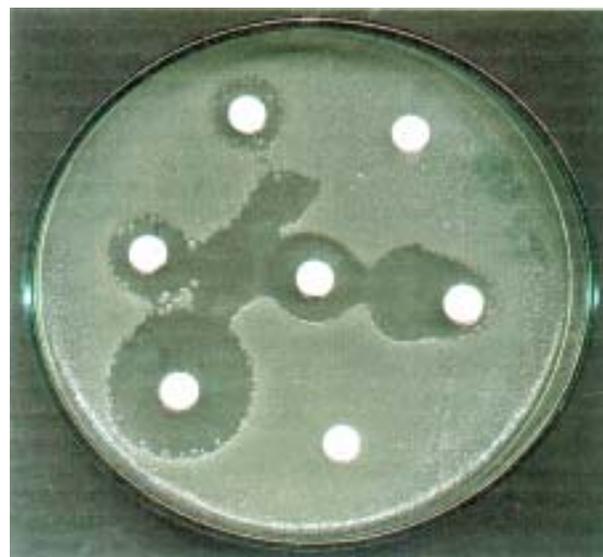


Figura 2. Efecto sinérgico (efecto huevo) entre cefalosporinas detectoras y la amoxicilina/clavulánico.

Mediante el análisis de los halos de inhibición y CIM para las cefalosporinas de espectro expandido (ceftazidime, cefotaxime, cefepime y aztreonam), en las diferentes enterobacterias en

Tabla 3

Caracterización de BLEE en cepas de enterobacterias aisladas de diferentes centros hospitalarios del área metropolitana

Cepas	ACTIVIDAD FENOTÍPICA				TIPIFICACIÓN MOLECULAR				Total
	Ceftazidimasa	Cefotaximasa	Ambas	Sin Act	SHV C	TX-M	SHV- CTX-M	SHV-TEM	
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	16(64)	4(16)	4(16)	1(4)	19(76)	2(8)	3 (12)	1(8)	25
<i>Escherichia coli</i>	7(43,8)	5 (31,3)	2(12,5)	2(12,5)	10(62,5)	3 (18,8)	1(6,3)	2(12,5)	16
<i>Enterobacter spp.</i>	1(100)	-	-	-	1(100)	-	-	-	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1(33,3)	-	1(33,3)	1(33,3)	3 (100)	-	-	-	3
<i>Proteus mirabilis</i>	-	2 (100)	-	-	-	2 (100)	-	-	2
<i>Citrobacter diversas</i>	-	1(100)	-	-	-	1(100)	-	-	1
<i>Citrobacter freundii</i>	1(100)	-	-	-	-	-	-	1(100)	1
<i>Salmonella spp.</i>	1(100)	-	-	-	1(100)	-	-	-	1
<i>Serratia marscesces</i>	1 (100)	-	-	-	1 (100)	-	-	-	1
Total	28(54,9)	12(23,5)	7(13,7)	4(7,8)	35(68,6)	8(15,7)	4(7,8)	4(7,8)	51

estudio (Tabla 3) se evidenció, que el 54,9 % de las cepas productoras de BLEE muestra una mayor actividad de tipo ceftazidimasa, lo cual generalmente se corresponde con BLEE tipo SHV y/o TEM. Mientras que sólo un 23,5 % de las cepas estudiadas mostró una fuerte actividad contra las cefalosporinas cefotaxime y cefepime, comportamiento característico de BLEE tipo CTX-M. Igualmente hay que señalar que 7 (13,7%) cepas poseen un patrón fenotípico característico de ambos tipos de BLEE, es decir, actividad marcada frente a ceftazidime, cefotaxime y cefepime.

Los ensayos de tipificación molecular mediante PCR/JRFLP revelaron que el mayor porcentaje de BLEE circulantes en estas cepas corresponde a la familia SHV con un 60,78 % (Figura 3). Mientras

que un 15,68 % de las cepas amplificaron con los iniciadores específicos para genes de la familia CTX-M (Figura 4). Asimismo se encontró que 4 (7,8 %) cepas presentan genes que codifican para las BLEE tipo SHV y CTX-M concomitantemente. Por otra parte, hubo resultados de amplificación positiva para genes de la familia TEM, pero siempre en asociación con genes de la familia SHV.

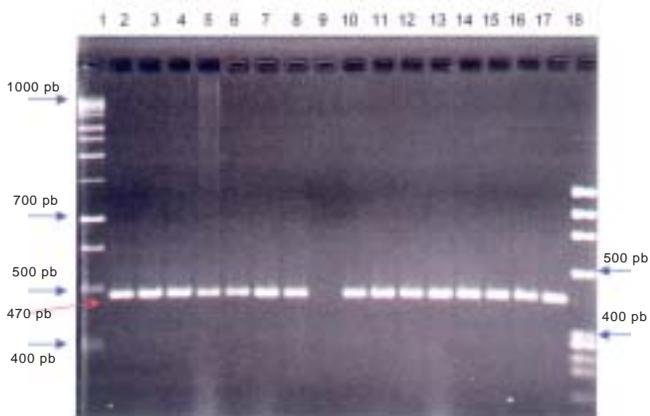


Figura 3. Corrida electroforética en gel agarosa al 1,2 % de PCR empleando el iniciador específico para el gen SHV. Carriles: 1) Marcador de PM DNA Ladder 1 kb. 2) HUC-0104C. 3) HUC-0104P. 4) HUC-0106C. 5) HUC-0106P. 6) HUC-0113C. 7) HUC-0113P. 8) HUC-0116C. 9) HUC-0116P. 10) HUC-0124C. 11) HUC-0124P. 12) HUC-0137C. 13) HUC-137P. 14) HUC-0148C. 15) HUC-0148P. 16) HUC-0150C. 17) HUC-0150P. 18) Marcador de PM Benchtop Hae II.

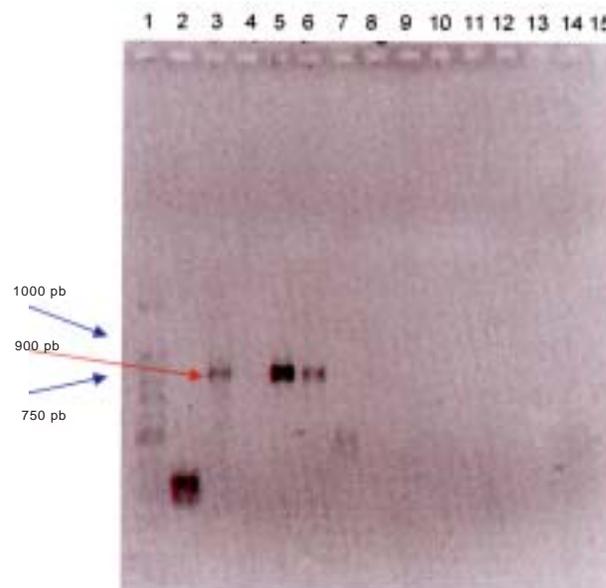


Figura 4. Corrida electroforética en gel de agarosa al 1,2 % empleando el iniciador específico para la familia de BLEE tipo CTX-M-2. Carriles: 1) Marcador de PM DNA Ladder 100 pb. 2) Control + de ADN bacteriano; K. pneumoniae ATCC-700603. 3) Control + de PCR-CTX-M-2; K. pneumoniae M-1803 (CTX-M-2). 4) Control de PCR-CTX-M-2; E. Coli ATCC 35218. 5) HCC-2161. 6) HCC-4365. 7) HCC-6139. 8) HCC-7155. 9) HCC-16822. 10) MCP-0312. 11) Control de contaminación corrida sin ADN.

## Ensayos de transferencia plasmídica de genes que codifican para BLEE

De las 51 cepas de enterobacterias en estudio pudieron ser conjugados sólo 36 de las mismas (69 %), debido a que estas poseían los marcadores fenotípicos adecuados para la ejecución del ensayo. De estas 36 enterobacterias se obtuvieron 29 cepas transconjugantes, es decir, 81 % de las cepas transfirieron material plasmídico a la cepa receptora (*E. coli* K-12).

Para evidenciar los marcadores de resistencia adquiridos por las cepas transconjugantes, se realizaron pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por el método de Kirby-Bauer, recomendado por la NCCLS 2004. En la Figura 5 se muestran los resultados de susceptibilidad y la comparación entre estos y las cepas donantes.

En la Figura 5, se puede evidenciar que para el ceftazidime que posee un alto porcentaje (65,5 %) de resistencia en cepas donantes, los niveles de resistencia en las cepas transconjugantes disminuyen levemente obteniéndose un 48,3 % de resistencia. En el caso de cefotaxime, los niveles de resistencia permanecen iguales con un 27,7 %. Sin embargo, los niveles de susceptibilidad intermedia presentan una disminución de más del 20 %. Para el monobactámico aztreonam existe una disminución desde un valor de 82,8 % de resistencia en las donantes a 41,4 % en las transconjugantes, pero los niveles de susceptibilidad intermedia son mayores (27,7 %) en las cepas transconjugantes. Con respecto, a la cefalosporina de cuarta generación cefepime, se observa un bajo porcentaje de resistencia en cepas donantes y transconjugantes con valores de 13,7 % y 7 % respectivamente.

Si bien es cierto que se observa, disminución de los valores de resistencia en las cepas trans-

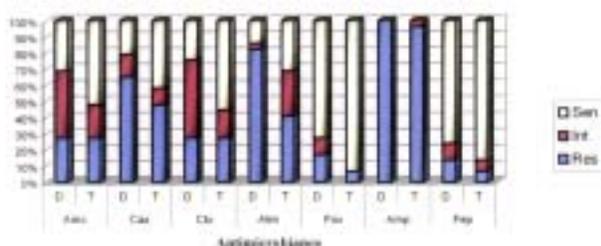


Figura 5. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas donantes y transconjugantes para antibióticos  $\beta$ -lactámicos.

cojugantes para las diferentes cefalosporinas de espectro expandido y para el aztreonam, hay que resaltar que en las 29 transconjugantes obtenidas mediante ensayos de conjugación, se evidencia la producción de BLEE mediante la observación del efecto sinérgico con por lo menos una de las cefalosporinas de espectro expandido utilizadas. Lo que nos indica que la transferencia plasmídica de genes que codifican para BLEE fue elevada en este estudio. Es decir, las variaciones existentes, son debidas a cambios en los niveles de resistencia (dM), pero se evidencia claramente la presencia de los genes codificantes para BLEE al observar el sinergismo frente al ácido clavulánico. Igualmente al realizar los ensayos de tipificación molecular, se identificaron la presencia de los mismos genes que codifican para BLEE en las cepas donantes en cada una de las cepas transconjugantes obtenidas. Corroborándose claramente el alto porcentaje de transmisibilidad de plásmidos conjugativos productores de BLEE en este estudio.

Un comportamiento bien interesante, fue el observado con el ceftazidime. En este caso observamos un 17,2% de resistencia y 10,3% de susceptibilidad intermedia en cepas de *K. pneumoniae* y *E. coli*, valores que no son esperados para estos géneros ya que no son microorganismos productores de enzimas tipo AmpC. Al realizar los ensayos de conjugación se observó la adquisición de resistencia a esta droga en las cepas transconjugantes, en un 7 %. Revelando la presencia de plásmidos conjugativos que portan genes para -lactamasas que hidrolizan a las cefamicinas (ceftazidime), como es el caso de las tipo AmpC en el ambiente hospitalario, dificultando cada vez más la detección de estos mecanismos de resistencia, a la vez que se limitan las opciones terapéuticas.

En la Figura 6, podemos observar que el alto porcentaje de resistencia y susceptibilidad intermedia observado en cepas donantes, para los aminoglicósidos gentamicina y amikacina, disminuye considerablemente en cepas transconjugantes, de un 38 % a 7 % para la amikacina y de 55,2 % a 0 % para gentamicina. La resistencia a trimetoprim/sulfametoxazol disminuye igualmente en las cepas transconjugantes, de un 59 % a 17 %, manteniéndose igual los niveles de susceptibilidad intermedia. En estos casos, se puede observar que hay una baja transmisibilidad del plásmido que confiere resistencia para dichas drogas, bajo las condiciones de conjugación ensayadas en este estudio.

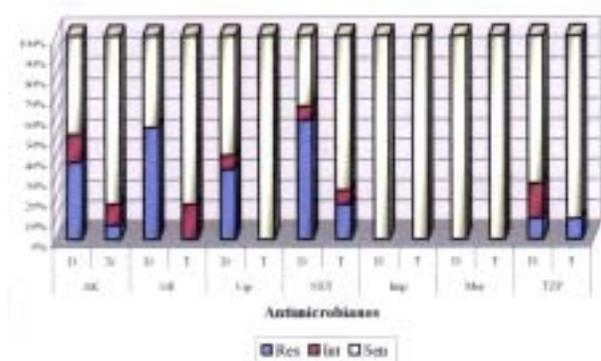


Figura 6. Susceptibilidad antimicrobiana en cepas donantes y transconjugantes a siete antibióticos.

En el caso de las quinolonas, se visualiza que a pesar de existir un 34 % de resistencia a la ciprofloxacina en cepas donantes, la misma no es transferida a las cepas transconjugantes. Comportamiento esperado, debido al hecho de que la alteración de los genes que generan dicha resistencia son de origen cromosómico.

Para la combinación piperacilina/tazobactam, se mantienen en un mismo porcentaje (10,3 %) los niveles de resistencia. Mientras que los carbapenemicos mantienen un 100 % de sensibilidad en cepas donantes y transconjugantes. Aislamientos plasmídicos. El 100 % de los aislamientos de plásmidos obtenidos en cepas transconjugantes, presentan una banda con un peso molecular en el rango de 25 000 pb (Figura 2: recuadro amarillo). Igualmente se observa que en más del 80 % de las cepas existe una banda de mayor peso molecular, la cual puede encontrarse por encima de los 50 000 pb (Figura 6: recuadro verde). Por otra parte se evidencia que un 44,8 % de las cepas poseen dos bandas con un peso molecular más bajo, de aproximadamente 3.500 pb y 2 500 pb respectivamente (Figura 7: recuadro azul).

En los aislamientos plasmídicos de las cepas donantes se observa una banda con un peso molecular de aproximadamente 25 000 pb, similar a la observada en las cepas transconjugantes (Figura 3: recuadro amarillo). Por otra parte, menos del 5 % de las cepas donantes posee una banda por debajo de los 2.000 pb (Figura 8 y 9: recuadros rojos), que no se observan en las cepas transconjugantes. En el resto de las cepas el patrón de aislamiento plasmídico es similar tanto en cepas donantes como en sus respectivas transconjugantes (Figuras 8 y 9).

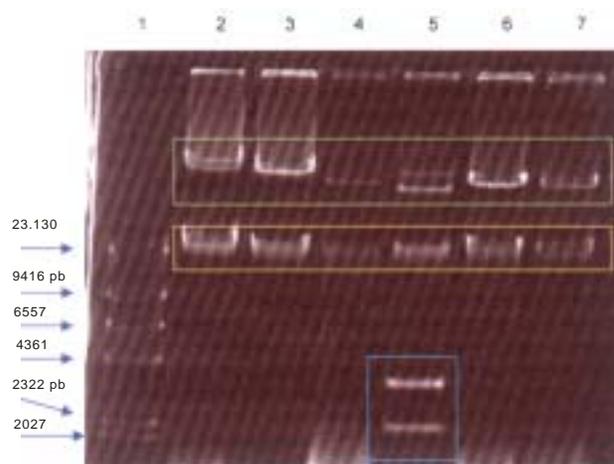


Figura 7. Aislamiento plasmídico en gel de agarosa al 0,6 % de cepas transconjugantes. Carriles: 1) Marcador de PM Lambda Hind III. 2) TrJGH-0301. 3) TrPM-0342. 4) TrMCP-0301. 5) TrMCP-0302. 6) TrJGH-0326. 7) TrMCP-0310.

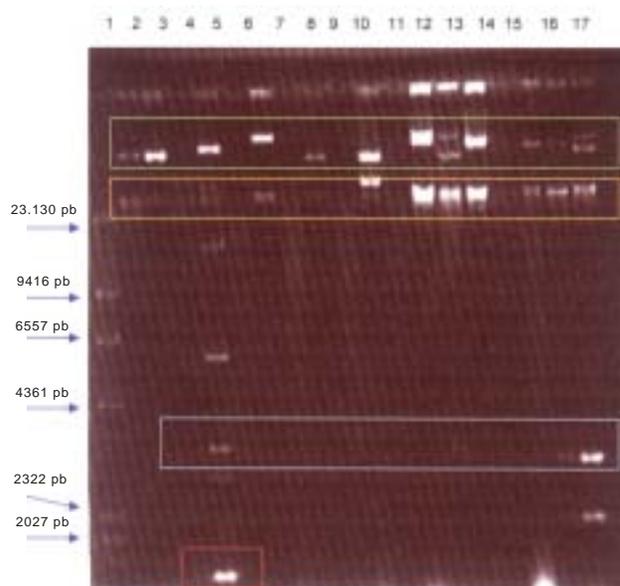


Figura 8. Aislamiento plasmídico en gel de agarosa al 0,6 % de cepas de enterobacterias y transconjugantes. Carriles: 1) Marcador de PM Lambda Hind III. 2) JGH-0325. 3) TrGH-0325. 4) JGH-0347. 5) TrGH-0347. 6) JGH-0348. 7) TrGH-0348. 8) JGH-0359. 9) TrJGH-0359. 10) JGH-0364. 11) TrGH-03634. 12) JGH-0301. 13) TrJGH-0301. 14) PM-0342. 15) TrPM-0342. 16) MCP-0301. 17) TrMCP-0301. 18) MCP-0302. 19) TrMCP-0302.

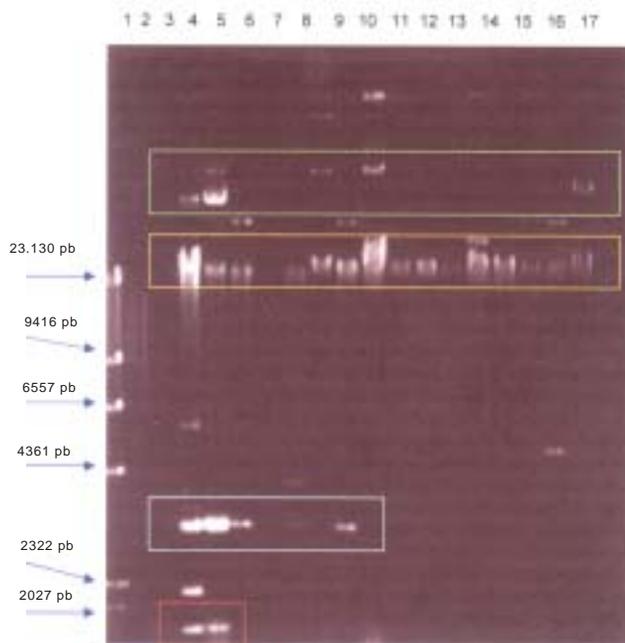


Figura 9. Aislamiento plasmídico en gel de agarosa al 0,6 % de cepas de donantes de enterobacterias y transconjugantes. Carriles: 1) Marcador de PM Lambda Hind III. 2) CC-4424. 3) TrCC-4424. 4) CC-15776. 5) TrCC-15776. 6) CC-2267. 7) TrCC-2267. 8) CC-16695. 9) TrCC-16695. 10) CC-6455. 11) TrCC-6355. 12) CC-16822. 13) TrCC-16822. 14) Nov-0302. 15) TrNov-0302. 16) Nov-0304. 17) TrNov-0304. 18) Nov-0307. 19) TrNov-0307.

## DISCUSIÓN

Los datos de susceptibilidad muestran que todas las cepas son susceptibles a carbapenémicos, lo que se considera importante debido a que existen estudios que consideran que estas drogas constituyen una alternativa terapéutica eficaz para el tratamiento de cepas multirresistentes productoras de BLEE (Wong, 2001).

Los patrones de resistencia para las diversas cefalosporinas de espectro extendido son similares en todas las cepas en estudio, para el caso de ceftazidime y aztreonam se observan altos niveles de resistencia (más del 80 %) y para cefotaxime se observan valores bajos (menos del 25 %) de resistencia, lo que demuestra un perfil hidrolítico mayor para sustratos tipo ceflazidime y aztreonam y con menor afinidad para cefotaxime y cefepime, lo que hace pensar en la existencia en mayor proporción de BLEE tipo SHV y/o TEM (Siro, 1995). Sin embargo, también existe un grupo de cepas (31,3 %) en la cual se ve un alto porcentaje de resistencia para

cefotaxime y menores niveles para ceftazidime, por lo cual fenotípicamente se tratan de cepas con actividad cefotaximasa, pudiéndose tratar de cepas productoras de BLEE tipo CTX-M.

Existe correlación entre los resultados fenotípicos obtenidos y los resultados de PCR. Se obtuvo que un 68,6 % de las cepas dieron resultados positivos al utilizar iniciadores específicos para el gen SHV. Existen diversos tipos de BLEE derivados de BLEE, sin embargo, en este estudio sólo se puede decir que las cepas son productoras de BLEE que presentan una mutación G® A en la posición 238 del gen. Como es el caso de las enzimas SHV-2, SHV-5, SHV-9, SHV-11, SHV-15 y SHV-34. Por otra parte, los resultados de PCR utilizando iniciadores específicos para CTX-M arrojan, que el 15,7 % de las cepas analizadas son productoras de BLEE relacionadas con esta familia, coincidiendo de igual manera con los resultados fenotípicos, todos los aislados positivos para esta familia presentan niveles de resistencia altos para cefotaxime con niveles de resistencia o susceptibilidad intermedia para cefepime, comportamiento característico de las enzimas pertenecientes a la familia CTX-M-2 (Liang y col., 2003, Melano y col., 2003 y Petroni y col., 2002).

Llama la atención, que en esta investigación se conjugaron y aislaron plásmidos, de diversos géneros bacterianos, aislados de diferentes fuentes biológicas y provenientes de distintas instituciones hospitalarias y sin embargo, se observó en la totalidad de las cepas un patrón de bandas plasmídicas muy similar. Lo cual indica, que desde el punto de vista epidemiológico, en nuestro centros hospitalarios circulan y se transfieren plásmidos con características similares. Situación que es comúnmente esperada entre aislamientos de una misma institución y/o servicios. Por su parte, el hecho de que todas las cepas incluidas en este estudio sean productoras de BLEE y se observe un patrón de plásmidos común (en el rango de 25 000 pb) nos habla de la muy probable presencia del gen que codifica para BLEE circulando mediante este plásmido. Otro hecho importante es la fácil transmisibilidad de este plásmido mediante ensayos de conjugación a la cepa receptora lo que demuestra una vez más la importante diseminación de estas enzimas de una especie a otra e incluso de un género a otro. Desde el punto de vista clínico, estos hallazgos deben llamar la atención a las diversas comisiones de enfermedades infecciosas, porque se observa claramente la alta frecuencia de transmisión de plásmidos que codifican para múltiples

determinantes de resistencia, en el ambiente hospitalario, lo que generalmente se traduce en un alto índice de fracasos terapéuticos y la restricción de un gran número de opciones antimicrobianas.

La presencia de un porcentaje de cepas que presentan dos bandas de bajo peso molecular que no fueron transmitidas a la cepa receptora durante la conjugación puede indicar que estos plásmidos son no conjugativos o no son transferibles bajo las condiciones de los ensayos de transferencia plasmídica utilizados en esta investigación.

## REFERENCIAS

1. Amabilé-Cuevas CF. Background 1. What are antibiotics? In: Origin. Evolution and Spread of Antibiotic Resistance Genes; R.G. Landes Company; Austin, Texas, EE.UU; 1995:1-11.
2. Amabilé-Cuevas CF, Chicurel ME. Bacterial Plasmids and Gene Flux. *Celi*. 1992;70:189-199.
3. Birboin H, Doly J. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombination plasmids DNA. *Nucleic Acids Research*. 1979;7:1513-1523.
4. Girlich D, Poirel L, Leelaporn A, Karim A, Tribuddharat C, Fennwald M, Nordmann P. Molecular Epidemiology of the Integron-Located VEB-1 Extended Spectrum  $\beta$ -lactamase iii Nosocomial Enterobacterial Isolates in Bangkok, Thailand. *J Clin Microbiol*. 2001;(1)39:175-192.
5. Jarlier V, Nicolas G, Fournier G, Philippon A. Extended broad spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Infect Dis*. 1988;10:867.
6. Liang Yu W, Pfaller MA, Winokur PL, Jones RN. Cefepime MIC as a predictor of the extended-spectrum  $\beta$ -lactamases type in *Klebsiella pneumoniae*, Taiwan. *Emerg Infect Dis*. 2003;8(5):522.
7. Medeiros AA. Evolution and dissemination of  $\beta$ -lactamases accelerated by generations of  $\beta$ -lactam antibiotics. *Clin Infect Dis*. 1997;24(Suppl):19-45.
8. Melano R, Corso A, Petroni A, Centron D, Orman B, Pereyra A, et al. Multiple Antibiotic-resistance mechanisms including a novel combination of extended-spectrum beta-lactamases in a *Klebsiella pneumoniae* clinical strain isolated in Argentina. *J Antimicrob Chemother*. 2003;46:1462
9. Petroni A, Corso A, Melano R, Cacace M, Bru A, Rossi A, Galas M. Plasmidic extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Vibrio cholerae* 01 El Tor isolates in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46:1462.
10. Wong A. Therapeutic challenges associated with extended-spectrum  $\beta$ -lactamases producing *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacotherapy*. 2001;21(5):583.

# Comportamiento epidemiológico de la coinfección virus de hepatitis B y virus de hepatitis C con el virus de inmunodeficiencia humana

Delsa Delgado Ch, Patricia Mantilla, Gabby Hernández V, Velmar Quintero P

## RESUMEN

**Introducción:** Los riesgos epidemiológicos compartidos por el VIH, y los virus de hepatitis B (VHB) y C (VHC), explican el aumento de prevalencia de VIH-VHB-VHC. **Objetivo:** Evaluar comportamiento clínico y epidemiológico de la co-infección VIH-VHB-VHC. **Diseño del estudio:** Retrospectivo, descriptivo, correlacional.

**Material y métodos:** Se registraron datos de marcadores de VHB y VHC, función hepática, antecedentes epidemiológicos y síntomas. **Resultados:** Universo 816 casos, 268 excluidos, muestra definitiva 548 casos, 91,39 % sexo masculino, 8,61 % femenino. Grupo más afectado: 36-50 años. 27,37 % resultó positivo para hepatitis B, 3,83 % para hepatitis C, y 15,14 % para Anticore 0,72 % reportaron coinfección VIH-VHB-VHC Tasa de Incidencia en 2 años: 0,17 y 0,02 para VIH-VHB y VIH-VHC respectivamente. Pacientes positivos para VFIB: 72 % evolucionó hacia la resolución y 18 % hacia la cronicidad. Pacientes positivos para VIIC: 9,52 % hizo inmunidad y 90,48 % infección crónica, 19 % con genotipo 1a y 9,52 % con genotipo 1b. De los cuales 50 % tiene cargas virales detectables. **Antecedentes epidemiológicos:** consumo de drogas fue determinante para VHC ( $P= 0,0042$ ) y ETS para VHB ( $P= 0,032$ ). **Comportamiento clínico:** Las transaminasas y los síntomas clínicos no mostraron diferencia significativa entre VHB y VHC. **Conclusiones:** La prevalencia de VIH-VI-IB es más alta que la reportada por la literatura, pero la de VHC es menor.

El comportamiento clínico y los antecedentes epidemiológicos de VIH-VHB y VIH-VHC son similares a los documentados en otras localidades. Los pacientes con Anticore + deben evaluarse para reactivación o falta de inmunidad de la infección. El genotipo 1 es frecuente en VIH-VHC. El 70 % de los pacientes requieren vacunación para prevenir VHS.

## INTRODUCCIÓN

El uso de la terapia antiretroviral altamente efectiva en los pacientes infectados por el virus de

la inmunodeficiencia humana (VIH), disminuyó la mortalidad considerablemente a partir del año 1996. Desde entonces, ha aumentado el interés sobre el estudio de enfermedades coexistentes que incrementen el rango de la morbi - mortalidad. Dentro del grupo de co-infecciones con el VIH han cobrado interés la hepatitis B (FIB) y hepatitis C (HC) (1).

El conocimiento de los riesgos epidemiológicos compartidos por el VIH, virus de hepatitis B (VFIB) y virus de hepatitis C (VHC), como contacto sexual tanto homosexual como heterosexual, antecedente de transfusiones sanguíneas y el uso de drogas endovenosas permiten comprender por que la incidencia del VHB y VHC aumentan en pacientes VIH positivos. Según el Centro para Prevención y Control de Enfermedades de Atlanta EE.UU, (CDC) (2) la prevalencia de anticuerpos anti virus hepatitis C es más alta en pacientes VIH seropositivos que en personas VIH seronegativas, con un rango que varía entre el 4 % y 94 % dependiendo del antecedente del uso de drogas endovenosas. El 25 % de los pacientes infectados con VIH tienen marcadores positivos para infección pasada de VI-IB (anticuerpo contra antígeno de superficie o anticuerpo contra el Core) y 10 % al 15 % son portadores crónicos (antígeno de superficie positivo) (3).

## OBJETIVO

El propósito de esta investigación fue evaluar el comportamiento clínico y epidemiológico de la co-infección VIH con el VI-IB, VHC o ambos en los pacientes de la Consulta de Inmunología del Instituto de Oncología y Hematología de la Universidad central de Venezuela (UCV).

## MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y análisis estadístico: se trata de un

estudio retrospectivo, descriptivo y correlacional. La relación entre variables cuantitativas fue descrita a través de la correlación de coeficientes. El análisis de correlación lineal simple (correlación de Spearman) se aplicó para variables no paramétricas de distribución predictiva no normal. Para la determinación de proporciones entre dos grupos con datos no apareados se utilizó el test de McNemar y la probabilidad exacta de Fisher. La significancia estadística fue considerada para valores  $P < 0,05$ .

**MÉTODOS:** Se registraron los datos en un formato de recolección de datos diseñado para el estudio. Se revisaron 816 historias de pacientes con diagnóstico de infección por VIH que acudieron a la consulta de inmunología del Instituto de Oncología y Hematología de la UCV durante los años 1998 a 2004, de las cuales fueron excluidas 268 historias porque no tenían pruebas realizadas de marcadores para HB y HC.

Se registraron los datos de marcadores de VHB: antígeno de superficie de VHB (Ags HB), Anticore (Mc 1-IB) y anticuerpo contra antígeno de superficie de VHB (AcAgs HB); marcadores de VHC: anticuerpo contra VHC (Ac VHC); así como también pruebas de función hepática: Aspartato Transferasa (AST) y Alanina Transferasa (ALT Fosfatasa Alcalina (FA), Gamma glutamil transferasa (GGT), Albúmina (Alb) y Globulinas (Glob); además se registraron los antecedentes epidemiológicos relevantes como la conducta sexual (heterosexual, homosexual, bisexual, promiscuidad), historia de enfermedades de transmisión sexual (ETS), transfusiones previas, hábitos alcohólicos, uso de drogas endovenosas y la sintomatología clínica.

## RESULTADOS

El número final de historias incluidas en el estudio correspondió a 548 casos que tenían pruebas serológicas realizadas para VHB y VHC, el 91,39 % (223 casos) correspondientes al sexo masculino y 8,61 % (21 pacientes) del sexo femenino. El 55,47 % (304 casos) fue negativo para los 2 virus. Solo el 10 % de pacientes negativos para VHB refería vacunación en esquema completo (3 dosis) contra la LIB. El 40,69 % (223 personas) resultó positivo para algún marcador para VHB, 2 % (11 individuos) positivo para VHC y el 1,82 % (10) mostraron positividad tanto para VHC como para algún marcador para VHB.

Pacientes positivos para algún marcador para VHB: La hepatitis B (tanto activa como pasada) tuvo una prevalencia de 27,37 % (150 pacientes), de los cuales el 50,40 % (123 casos, 3 de ellos co-infectados con VHC) desarrollaron una respuesta inmunológica completa (Ac cHE positivo y Ac AgsHB positivo) y 11,06 % (27 personas) tenían hepatitis B crónica (1 de ellos co-infectados con VHC). La prevalencia para Anticore como único marcador para 1-IB fue de 15,48 % en pacientes con infección por VIH (83 individuos) y fue mayor, 28,57 % en pacientes co-infectados con VIH - VHC (6121 casos). El 36,24 % de individuos con algún marcador positivo para VHB mostró positividad para Anticore aislado. El 4,09 % (10) de los pacientes en este grupo, expresó además serología positiva para VHC: 6 con Anticore aislado, 3 desarrollaron inmunidad natural (Ac dHB positivo y Ac AgsHB positivo) y uno con hepatitis crónica. Al comparar estos datos con los datos obtenidos en un estudio epidemiológico realizado en esta institución en julio de 2002, presentado en las Jornadas de Infectología del año 2002, se aprecia una tasa de incidencia en 2 años del 0,17, que corresponde a 56 nuevos casos. Cuatro de los pacientes que tenían en el año 2002 positividad para Anticore aislado, cambiaron su estado serológico, 3 desarrollaron inmunidad (Ac dHI3 positivo y Ac AgsHB positivo) y uno evolucionó hacia la cronicidad (Ac cHB positivo y Ags HB positivo). Además, un paciente que había depurado el Ags FIB y tenía Ac AgsHB positivo para el año 2002, presentó nuevamente en el año 2004 AgsHB positivo, sin manifestaciones clínicas ni de laboratorio, y sin asociación con el tratamiento antirretroviral.

Pacientes positivos para VHC: la prevalencia para VHC fue de 3,83 % (211548 casos). El 9,52 % de los pacientes infectados por V1-IC (2/21 casos) se recuperó de la infección (ARN para VHC negativo en 2 ocasiones diferentes) y 85,25 %, desarrollo infección crónica. La presencia de marcadores tanto para VHC como para VHB se hizo evidente en el 47,61 % de los casos (10/21): 28,57 % (6/21 personas) con Anticore positivo aislado y 19,04 % evidenció marcadores de co-infección VHC - VHB (3/21 desarrollaron inmunidad natural para VHB y 1/21 tenía infección crónica por VHC y VHB). La tasa de incidencia en 2 años para VHC fue de 0,02. Sólo 4 pacientes tenían realizado genotipo para VHC, 75 % fueron del genotipo la y 25 % del genotipo lb.

Al distribuirlos por edades. El grupo más afectado fue el grupo etario de 36 a 50 años, con 79,9 % de personas infectadas.

Antecedentes epidemiológicos más importantes: no hubo diferencia estadísticamente significativa en el tipo de conducta sexual homosexual o heterosexual al comparar los grupos con infección por VHB, VHC y Anticore aislado. En los 3 grupos predominó la conducta homosexual (82 %, 52,38 %, 71,08 % respectivamente). Consumo de drogas por vía parenteral fue determinante para la coinfección con VHC ( $P = 0,0042$ ), no así para VHB ni con la presencia de Anticore aislado. El antecedente de ETS tuvo correlación positiva para VHB ( $P = 0,032$ ). Solamente el 6,96 % de los pacientes estudiados (17 casos) reportó alguna transfusión previa, (47,05 % asociado a VHB, 47,05 % asociado a Anticore aislado y 5,88 % en personas con infección por VHC). El antecedente de transfusiones previas se asoció de manera estadísticamente significativa con la adquisición de marcadores para VHB ( $P < 0,01$ ). El consumo de alcohol fue muy frecuente pero sin diferencia entre los 3 grupos VI-IB, VHC y Anticore aislado.

Comportamiento clínico: al clasificar a los pacientes con co - infección VIII- VI-IB y VIH - VHC, por categoría clínica según la clasificación del CDC de Atlanta de 1993 y en grupos de acuerdo al número de linfocitos T CD4+, hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P = 0,02$ ), porque el 57,89 % de los casos positivos para VHB presentó conteo de linfocitos CD4+  $< 200$  células/mm<sup>3</sup> y 57 % categoría clínica C, en contraste, sólo el 1,31 % de los pacientes con infección por VHC tuvo conteo de linfocitos CD4+  $< 200$  células/mm<sup>3</sup> y 3,56 % se catalogaba como caso SIDA. El promedio del valor de las enzimas hepáticas fue mayor en el grupo con hepatitis 13 crónica (106,22 U/L para aspartato transferasa AST y 213,17 U/L para alanina transferasa ALT) que en la hepatitis C crónica (88,70 U/L para AST y 139,70 U/L para ALT), sin diferencia significativa. Tampoco hubo diferencia significativa entre los pacientes con VI-IB, VHC y co - infección V11-I-VHB-VHC en el resto de parámetros de laboratorio (IOT, FA, Alb. y Glob).

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La prevalencia de VIH-VHB en nuestro estudio fue más alta que la mencionada en la literatura. Lincoln y col. reportan una prevalencia del 4,8 % (4). La mayoría de los pacientes seropositivos a VHB superaron el curso de la enfermedad y desarrollaron inmunidad (50,40 % en nuestro estudio), aunque el porcentaje es menor que el reportado por otros estudios, posiblemente

porque muchos de los pacientes con Anticore positivo son pacientes con hepatitis activa que evolucionan hacia la curación (5,6). El 11,06 % de los pacientes con VHB evolucionó a la cronicidad, al igual que en otros estudios (5 %-15 %).

La presencia en solitario del Anticore fue elevada (36,34 %). Este hallazgo interfiere con las estadísticas reales. En un estudio realizado en 1987 por Biggart y col., se demostró que los pacientes co - infectados por VIH con infección pasada por VHB tienden a perder con el tiempo el marcador anti-HBs más frecuentemente que la población sin infección por el VIH, lo que explicaría la prevalencia más elevada del patrón anti-HBc aislado en pacientes positivos para el VIH (7). Gandhi y col., reportaron mayor frecuencia de Anticore aislado: 78,3 %, en pacientes seropositivos para VIH, 77,6 %, y el factor más asociado con la detección de Anticore aislado fue la co - infección con VIH - VHC (8). En nuestro estudio también encontramos mayor frecuencia de Anticore aislado en los pacientes co - infectados con VIII- VHC que en los pacientes con VIII exclusivamente (28,57 % y 15,48 % respectivamente).

Las posibles explicaciones para la alta prevalencia de Anticore aislado en personas positivas para VIII, pueden ser varias. En primer lugar, pérdida del Ac AgsNB luego de una respuesta inmunológica adecuada ante la infección; falta de producción del Ac AgsHB por severa inmunodeficiencia. Otra razón puede ser infección oculta sin expresión de AgsHB en grupos de individuos con alta prevalencia o con conductas sexuales de riesgo (9). Además, se ha observado falsos positivos en personas co - infectadas con virus de hepatitis D.

Algunos estudios han encontrado una incidencia de hasta el 11 % de seroconversión en pacientes con infección por VIII que tienen como único marcador para VI-IB Anticore aislado (10). En este estudio, tuvimos seroconversión a hepatitis B activa (Ag sHB) en un paciente solamente (0,01 %).

Los pacientes con Anticore positivo como marcador aislado de HB deben evaluarse periódicamente para seguir su evolución porque en algunos casos se puede presentar reactivación o falta de inmunidad de la infección. Los autores de este trabajo, recomiendan vacunación para VHB para este grupo siempre y cuando los linfocitos CD4+ estén por encima de 200 células/mm<sup>3</sup>, porque existe el riesgo de infección al desconocer la evolución del Anticore aislado.

La prevalencia para hepatitis C fue menor que

la reportada por la literatura (3,83 %), porque se estima que en algunas localidades hasta el 50 % a 80 % de las personas seropositivas para VIII están co-infectadas con hepatitis C (11-13). La causa de esta baja prevalencia seguramente se asocia a la forma de transmisión del VIII que predomina en nuestro país principalmente por vía sexual y no por el uso de drogas endovenosas como sucede en Europa. El genotipo 1 es frecuente en VIII - VHC.

Los antecedentes epidemiológicos de VIII VHB y VIII - VHC son similares a los documentados en otras localidades. Las ETS y transfusiones fueron los más determinantes en co - infección por VHB, en cambio para VHC el uso de drogas por vía parenteral fue dominante. Esto demuestra que la conducta sexual no es factor determinante para la adquisición de VHC (14). Nosotros obtuvimos mayor estado de inmunosupresión en los pacientes co - infectados con VHB contrariamente a lo encontrado por otros investigadores que han observado más déficit inmunológico en coinfección con VHC (13,15). Es necesario desarrollar estudios de tipo prospectivo y comparativo para evaluar la evolución y la repercusión del VHB y VHC en la infección por VIII. Existen pocos estudios en nuestro país sobre la epidemia del VIII, co - infecciones y enfermedades oportunistas. Una de las fortalezas de este trabajo es que refleja posiblemente lo que sucede con VHB y VHC a gran escala en Venezuela, sin embargo, nos conseguimos con la limitación de que solo un 50 % de los pacientes tenían pruebas serológicas para VHB y VHC, lo cual puede constituir un sesgo en los resultados. Hacen falta más estudios epidemiológicos, de carácter multicéntrico, con mayor número de pacientes, que reflejen más ciertamente la situación del VIII en Venezuela. Por último, recomendamos incentivar la vacunación para VHB en la población seropositiva para VIII con pruebas negativas para VHB, porque el 90 % de estas personas están desprotegidas.

## REFERENCIAS

1. Poles M, Dieterich D. Infection of the liver. *Infect Dis Clin North Am.* 2000;14:1-11.
2. Castro GK, Ward JW, Slutsker L, Buehler JW, Jaffe HW, Berkelman RL. National Center for Infectious Diseases Division of HIV/AIDS. 1993 Revised Classification System for HIV infection and Expanded Surveillance Case Definition for AIDS Among Adolescents and Adults. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* 1992;41(RR-17).
3. Gordon S, Reddy K, Gould E. The spectrum of liver disease in the acquired immunodeficiency syndrome. *J Hepatology.* 1986;2:475-484.
4. Lincoln D, Petoumenos K, Dore GJ. Australian HIV Observational Database HIV/HBV and HIV/HCV coinfection, and outcomes following highly active antiretroviral therapy. *HIV Medicine.* 2003;4(3):24-1249.
5. Saillour F, Dabis F, Dupon M, Lacoste D, Trimoulet P, Rispal P, et al. Groupe d'Epidemiologie Clinique du SIDA en Aquitaine. Prevalence and determinants of antibodies to hepatitis C virus and markers for hepatitis B virus infection in patients with HIV infection in Aquitaine. *BMJ.* 1996;313(7055):461-464.
6. Davaro RE, Cheeseman SH, Keroack MA, Ellison RT. The significance of isolated antibody to hepatitis B core antigen seropositivity in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis.* 1996;23(1):189-190.
7. Biggart RJ, Goedert JJ, Hoofnagle J. Accelerated loss of antibody to hepatitis B surface antigen among immunodeficient homosexual men infected with HIV. *N Engl J Med.* 1987;316:630-631.
8. Gandhi RT, Wurcel A, Lee II, McGovern B, Boczanowski M, Gerwin R, et al. Isolated antibody to hepatitis B core antigen in human immunodeficiency virus type-1-infected individuals. *Clin Infect Dis.* 2003;36(12):1602-1605.
9. Ke Sherman. Prevalence of occult hepatitis B infection in HIV-infected patients; analysis of a geographically distributed ACTG cohort Abstract 820. 10<sup>th</sup> Conference on Retrovirus and opportunistic infections. Boston, MA, EE.UU. 2003:10-44.
10. Quaglio G, Lugoboni F, Vento S, Lechi A, Accordini A, Bossi C, et al. Isolated presence of antibody to hepatitis B core antigen ID injection drug users: Do they need to be vaccinated? *Clin Infect Dis.* 2001;32(10):E143-144.
11. Amin J, Kaye M, Skidmore S, Pillay D, Cooper DA, Dore GJ. HIV and hepatitis C coinfection within the CAESAR study. *HIV Medicine.* 2004;5(3):174-939.
12. Roca B, Suarez I, Gonzalez J, Garrido M, de la Fuente B, Teira R, et al. Hepatitis C virus and human immunodeficiency virus coinfection in Spain. *J Infect.* 2003;47(2):117-124.
13. Martin J C, Castilla J, Lopez M, Arranz R, González-Lahoz J, Soriano V. Impact of chronic hepatitis C on HIV-1 disease progression. *HIV Clinical Trials.* 2004;5(3):125-131.
14. Monga HK, Rodriguez MC, Breaux K, et al. Hepatitis C virus infection-related morbidity and mortality among patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis.* 2001;33:240-247.
15. Staples CT, Rimland D, Dudas D. Hepatitis C in the HIV (Human Immunodeficiency Virus) Atlanta V.A. (Veterans Affairs Medical Center) cohort study (HAVACS): The effect of coinfection on survival. *Clin Infect Dis.* 1999;29:150-154.

# Histoplasmosis y síndrome hemofagocítico en pacientes pediátricos con infección por el virus de inmunodeficiencia humana

María Graciela López<sup>1</sup>, Luigina Siciliano<sup>2</sup>, José Franco<sup>1</sup>, Juan Félix García<sup>3</sup>, Francisco Valery<sup>4</sup>, Lisbeth Aurenty<sup>4</sup>, Analisa Espósito<sup>5</sup>, Miriam Miranda<sup>5</sup>, Maribel Torres<sup>6</sup>, Daloy González<sup>6</sup>

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Unidad VIH/SIDA. Hospital de Niños "J.M. de Los Ríos". Caracas, Venezuela

## RESUMEN

En áreas endémicas, la histoplasmosis en adultos con infección por el virus de inmunodeficiencia humana, ocurre entre 2 % y 5 %. Los pacientes pediátricos con virus de inmunodeficiencia humana deben ser considerados en riesgo de adquirir histoplasmosis en dichas áreas. Con inmunosupresión severa, en el 95 % de los casos la histoplasmosis es diseminada y puede acompañarse de síndrome hemofagocítico.

**Objetivo:** Del presente trabajo es evaluar la frecuencia de histoplasmosis y la frecuencia de síndrome hemofagocítico en pacientes pediátricos con infección virus de inmunodeficiencia humana.

**Método:** Se realizó un estudio clínico, retrospectivo y descriptivo. Se revisaron historias clínicas obtenidas del Servicio de Historias Médicas del Hospital de Niños "J. M. de Los Ríos", de pacientes con diagnóstico de infección virus de inmunodeficiencia humana hasta julio 2003, que presentaron histoplasmosis y aquellos que presentaron síndrome hemofagocítico.

**Resultados:** Se revisaron 237 historias de pacientes con infección virus de inmunodeficiencia humana, de los cuales 4 (1,6 %) presentaron diagnóstico de histoplasmosis; 3 de ellos (75 %) con histoplasmosis diseminada. Uno de estos pacientes presentó síndrome hemofagocítico, el cual fue el único con dicho diagnóstico en la serie revisada (0,42 %). Ningún paciente recibió tratamiento antirretroviral de alta eficacia previo al diagnóstico de histoplasmosis. El paciente con síndrome hemofagocítico e histoplasmosis diseminada recibió profilaxis secundaria asociada al tratamiento antirretroviral de alta eficacia, con sobrevida hasta el momento mayor de 1 año.

**Conclusiones:** La frecuencia de histoplasmosis en pacientes pediátricos con virus de inmunodeficiencia humana fue menor que lo descrito en adultos de áreas endémicas, siendo la forma diseminada la más frecuente.

El síndrome hemofagocítico en pacientes pediátricos con infección virus de inmunodeficiencia humana tuvo baja incidencia.

**Palabras clave:** Histoplasmosis. Síndrome hemofagocítico. Virus de inmunodeficiencia humana. Pacientes pediátricos.

## INTRODUCCIÓN

En áreas endémicas, la histoplasmosis en pacientes con infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) ocurre en 2 % a 5 % de los casos, alcanzando en algunas series al 25 % (1-4). Aun cuando, no se reportan mayores datos, se estima que los pacientes pediátricos con VIH que viven en áreas endémicas, también tienen riesgo de presentar histoplasmosis (5).

En pacientes con infección VIH e inmunosupresión avanzada, el 95 % de los casos de histoplasmosis presentan infección diseminada, con un curso rápido y frecuentemente fatal. En casos no tratados la tasa de mortalidad es del 100 % y con tratamiento adecuado, la sobrevida puede alcanzar un 80 % (1-3,6,7).

En histoplasmosis diseminada y al igual que ocurre ocasionalmente en algunos procesos

<sup>1</sup> Residente de 2º año de Infectología Pediátrica. Hospital de Niños "J M de Los Ríos". Caracas Venezuela.

<sup>2</sup> Jefe de la Unidad VIH/SIDA. Adjunto de Servicio de Enfermedades infecciosas. Hospital de Niños "J M de Los Ríos". Caracas Venezuela.

<sup>3</sup> Jefe del Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital de Niños "J M de Los Ríos". Caracas Venezuela.

<sup>4</sup> Adjunto del Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital de Niños "J M de Los Ríos". Caracas Venezuela.

<sup>5</sup> Residentes de 1º año de Infectología Pediátrica. Hospital de Niños "J M de Los Ríos". Caracas Venezuela.

<sup>6</sup> Residentes del Posgrado de Puericultura y Pediatría. Universidad Central de Venezuela. Hospital de Niños "J M de Los Ríos". Caracas Venezuela.

infecciosos y no infecciosos, se puede presentar compromiso hematológico severo, con evidencia de hemofagocitosis en médula ósea. El síndrome hemofagocítico (SHF) o síndrome de reactivación hemofagocítica requiere un manejo precoz y agresivo, describiéndose por lo general, una evolución tórpida y alta mortalidad (1,8,9). El SHF es un desorden debido a la activación inapropiada de los macrófagos y monocitos, descrito en gran variedad de infecciones que frecuentemente se presentan en los pacientes con infección VIH (8,9).

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la frecuencia de histoplasmosis y la frecuencia de SHF en pacientes pediátricos con infección VIH.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio clínico, retrospectivo y descriptivo donde se revisaron las historias clínicas obtenidas del Servicio de Historias Médicas del Hospital de Niños "J. M. De Los Ríos", de aquellos pacientes con diagnóstico de infección VIH confirmada hasta julio 2003, que presentaron histoplasmosis y aquellos que presentaron síndrome hemofagocítico.

El diagnóstico de histoplasmosis se confirmó por los hallazgos histopatológicos y serológicos, mientras que el diagnóstico de síndrome hemofagocítico fue confirmado por la evidencia de hemofagocitosis en médula ósea.

Las variables consideradas fueron, edad al momento del diagnóstico de histoplasmosis y/o síndrome hemofagocítico, sexo, forma de transmisión de VIH, características clínicas, inmunológicas y virológicas, tratamiento antirretroviral, presencia de coinfección, evolución y sobrevida.

## RESULTADOS

Se revisaron 237 historias de pacientes con infección VIH, de los cuales 4 (1,6 %) presentaron diagnóstico de histoplasmosis. De estos pacientes, 1 (25 %) presentó histoplasmosis pulmonar y 3 pacientes (75 %) histoplasmosis diseminada.

Uno de los pacientes con histoplasmosis diseminada presentó SHF, el cual representó el 25 % de los casos que presentaron histoplasmosis. Este fue el único paciente con infección VIH que presentó SHF diagnosticado, por cualquier causa, registrado en las historias revisadas, lo que constituye un 0,42 % (n = 1) de todos los pacientes incluidos. El diagnóstico de histoplas-

mosis fue confirmado en 2 pacientes (50 %) por hallazgos serológicos positivos, en 1 paciente (25 %) por sospecha clínica, descarte de otros procesos y respuesta al tratamiento específico y en 1 paciente (25 %) por evidencia histológica del hongo en médula ósea.

Todos los pacientes fueron escolares con edades que oscilaban entre 10 y 12 años y todos fueron del sexo masculino.

La forma de transmisión del VIH en 3 pacientes fue horizontal, probablemente posterior a transfusiones y 1 paciente de transmisión desconocida.

En relación con las manifestaciones clínicas, todos los pacientes presentaron compromiso respiratorio. Tres pacientes (75 %) presentaron fiebre, hepatomegalia y esplenomegalia, correspondiendo a los pacientes con enfermedad diseminada.

El hallazgo radiológico en tórax, más frecuente fue el infiltrado intersticial bilateral en el 75 % de los casos. En relación al compromiso hematológico 2 pacientes (50 %) presentaron leucopenia y anemia y uno (25 %) presentó trombocitopenia. El paciente con SHF fue el único en presentar alteración en las tres series hematológicas.

Sólo 2 pacientes (50 %) tenían registro de subpoblaciones linfocitarias al momento del diagnóstico de histoplasmosis presentando valores absolutos de linfocitos CD4+ menores de 200 cel/mL (<15 %). Ambos pacientes tenían histoplasmosis diseminada incluyendo el paciente con hemofagocitosis.

Sólo en 1 paciente (25 %) se documentó carga viral para VIH al momento del diagnóstico de histoplasmosis cuyo valor fue mayor a 500 000 copias RNA/mL, correspondiendo al paciente con hemofagocitosis.

En relación con el tratamiento antirretroviral, 1 (25 %) paciente no lo recibía, 2 pacientes (50 %) eran tratados con monoterapia (según el esquema aprobado para el momento) y 1 paciente (25 %) recibió tratamiento de alta eficacia con el inicio de los síntomas de histoplasmosis.

El tratamiento administrado fue ketoconazol en el paciente con histoplasmosis pulmonar y anfotericina B (35 mg/kg) en los 3 pacientes con histoplasmosis diseminada. El paciente que presentó SHF recibió además de anfotericina B, quimioterápicos y esteroides.

De los 4 casos evaluados, 3 pacientes (75 %) experimentaron infección por otros agentes infecciosos. Estas infecciones ocurrieron antes del diagnóstico de histoplasmosis en el 66,6 % (n2) de los casos y 33,3 % (n = 1) concomitante con la

histoplasmosis. Entre estas infecciones se incluyeron candidiasis esofágica, neumonía por *Pneumocystis jirovecii* e infección por el virus de hepatitis C, esta última en el paciente con SHF. Tres pacientes con histoplasmosis diseminada recibieron profilaxis secundaria, 1 con ketoconazol y 2 con itraconazol incluido el paciente con SHF.

La sobrevida de 2 pacientes (uno con la forma diseminada y otro con la forma pulmonar) no superó 8 meses posteriores al diagnóstico. En un paciente se desconoce registro de fallecimiento o evolución, y el otro paciente con histoplasmosis diseminada y SHF al momento de este análisis tenía un año de sobrevida con mejoría clínica y valores de linfocitos CD4+ de 379 cel/mL (18 %).

## DISCUSIÓN

En toda su extensión, Venezuela se considera área endémica para histoplasmosis con algunos reportes que señalan incidencia de hasta 21 % a 27 % de casos, después de algún brote (10,11). La incidencia global de histoplasmosis en pacientes adultos con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) ha sido descrita desde 2 % a 5% hasta 25 % y 53 % (Indiana) en zonas de mayor endemicidad (1-3,6,12). Se estima que los pacientes pediátricos con VIH que viven en áreas endémicas, también tienen riesgo presentar histoplasmosis (5). En nuestra serie la frecuencia de histoplasmosis fue 1,6 % valor por debajo de lo reportado para adultos en regiones endémicas, lo que podría ser debido a la dificultad en el diagnóstico etiológico de infecciones con componente respiratorio, que en ocasiones lleva al tratamiento empírico. Sin embargo, es importante señalar que en la base de datos LILACS no existen reportes sobre la incidencia de histoplasmosis en niños con infección VIH, que sean comparables con los obtenidos en este reporte.

Los pacientes con infección VIH con histoplasmosis, por lo general tienen un curso severo y con enfermedad diseminada (1-3,13-15). En este trabajo también se encontró que el 75 % de los pacientes presentaron enfermedad diseminada. Esta elevada frecuencia de la forma diseminada de la enfermedad en pacientes con infección VIH e inmunosupresión avanzada se debe al importante compromiso de la inmunidad celular, pilar fundamental en la defensa contra las enfermedades micóticas. El rol central de los linfocitos CD4+ en la defensa contra el *Histoplasma capsulatum* es sustentado por los hallazgos en los pacientes con infección VIH, los

cuales cuando presentan histoplasmosis diseminada poseen valores de células CD4+ < 200 cel/mm, e incluso con valores entre 200 y 500 cel/mm (1,16). En esta revisión los 2 pacientes en los que se documentó conteo de linfocitos CD4+, presentaron valores <200 cel/mm, correspondiendo a pacientes con histoplasmosis diseminada, uno de ellos con carga viral > 500 000 copias/mL, lo que sugiere que la replicación viral no controlada es en definitiva lo que conlleva al deterioro inmunológico y a la emergencia de infecciones oportunistas.

En algunas series se reporta la frecuencia del SHF entre un 12,5 % hasta un 66 % de los casos de histoplasmosis. Esta elevada incidencia, según lo explican sus autores, puede ser un efecto de selección, posiblemente en relación al poco control de estos pacientes o puede reflejar la ausencia del diagnóstico precoz de histoplasmosis. Es posible que algunos pacientes con histoplasmosis diseminada que se presentan con sepsis cursen con SHF, lo que nos señala la importancia del estudio de médula ósea (3,17,18). En nuestro estudio la frecuencia de SHF en histoplasmosis fue de 25 % que coincide con lo reportado en la literatura.

El SHF puede estar asociado a gran variedad de enfermedades infecciosas y no infecciosas. En pacientes con infección VIH el propio virus puede inducir SHF o estar asociado con infecciones que comúnmente afectan a estos pacientes (19,20). En la totalidad de los pacientes VIH, el SHF por cualquier causa, se presentó en un 0,42 % (1/237). Esta baja incidencia del SHF que se encontró en este trabajo podría ser explicada por un lado a la ausencia de diagnóstico adecuado y oportuno, debido al poco conocimiento del síndrome en los primeros años de este estudio y por otro lado a la disminución de la incidencia de las enfermedades oportunistas que se presentan con SHF, con el advenimiento de la era de la terapia antirretroviral de alta eficacia la cual es actualmente el tratamiento de más del 90 % de nuestros pacientes. Todos los pacientes de este estudio fueron escolares, sin embargo, se ha descrito que la histoplasmosis afecta a pacientes de todas las edades (2).

En cuanto al sexo lo descrito en este trabajo se corresponde con lo reportado en la literatura donde en pacientes mayores de 10 años la histoplasmosis es más frecuente en el sexo masculino (1,2,6).

En relación con las manifestaciones clínicas, al igual que lo señalado por Wheat y col., el compromiso respiratorio fue el más común, presentándose en el 100 % de los pacientes (3).

La fiebre, hepatomegalia y esplenomegalia estuvieron presentes en todos los pacientes con histoplasmosis diseminada (75 %), al igual que lo reportado en diferentes series (1,3,6,8,10).

El hallazgo radiológico más frecuente en las radiografías de tórax fue el infiltrado intersticial bilateral, y así lo describen diferentes autores (1,2), sin embargo, la ausencia de alteraciones en los estudios radiológicos no excluye el compromiso pulmonar en los pacientes con infección VIH e histoplasmosis (3).

El compromiso hematológico presente en las formas diseminadas de histoplasmosis, 90 de los casos con anemia y 80 % de los niños con leucopenia y trombocitopenia, debe alertar en pacientes con infección VIH febriles, a la presencia SHF" (7). En este trabajo el paciente con SHF fue el único en presentar alteración de las tres series hematológicas, mientras que los otros 2 pacientes con histoplasmosis diseminada presentaron sólo anemia y leucopenia. En base a estos hallazgos se insiste en el análisis de la médula ósea en todo paciente que se presente con alguna alteración en sangre periférica, con la finalidad de hacer diagnósticos en fase temprana.

Ningún paciente recibió terapia antirretroviral de alta eficacia antes del inicio de los síntomas de histoplasmosis, terapia que se considera factor crucial para la disminución de infecciones oportunistas en los pacientes con infección VIH (21).

Los pacientes con VIH e histoplasmosis, por lo general cursan con otros procesos infecciosos asociados. La mayoría de los pacientes presentaron alguna otra infección antes o durante el curso de la histoplasmosis. En nuestra serie se reportó 33,3 % de pacientes con histoplasmosis concomitante a otros procesos infecciosos valor semejante a lo reportado en otras revisiones (3).

En relación al tratamiento específico para la histoplasmosis, los 3 pacientes con la forma diseminada fueron tratados con anfotericina B y recibieron profilaxis secundaria, lo cual es el tratamiento recomendado en la mayoría de las series (1,3,6,8,10). El único paciente con SHF actualmente sobrevive después de 1 año del tratamiento y continúa recibiendo profilaxis con itraconazol además de tratamiento antirretroviral de alta eficacia. La presencia de SHF asociado o no a histoplasmosis, por lo general se asocia a elevada mortalidad (1,22-25).

En pacientes pediátricos con infección VIH el tratamiento adecuado y oportuno de la histoplasmosis y el SHF, asociado a la profilaxis secundaria a largo plazo, además del control adecuado de la

infección VIH, son medidas fundamentales para lograr una mayor sobrevida.

## CONCLUSIONES

La histoplasmosis en pacientes pediátricos VIH fue menor que lo descrito en otras áreas endémicas, siendo la forma diseminada la más frecuente.

El SHF en pacientes pediátricos con infección VIH tuvo baja incidencia.

El SHF es una entidad a considerar en pacientes con histoplasmosis diseminada, la cual representa una enfermedad micótica importante en pacientes pediátricos con infección VIH, sobre todo en áreas endémicas.

## REFERENCIAS

1. Deepe GS. *Histoplasma capsulatum*. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolm R, editores. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5ª edición. Filadelfia: Churchill Livingstone; 2000.p.2718-2733.
2. Belfort E, Torres JR. Micosis. En: Universidad Central de Venezuela. Cátedra de Medicina Tropical. Programa de enseñanza 2002- 2003; tomo I 69-89.
3. Wheat J, Connolly-Stringfield PA, Baker R, Curfman MF, Eads ME, Israel K, et al. Disseminated Histoplasmosis in the Acquired Immune Deficiency Syndrome: Clinical Findings, Diagnosis and treatment, and Review of the Literature. *Medicine*. 1990;69:361-374.
4. Wheat J. Histoplasmosis in the Acquired immuno deficiency Syndrome. *Curr Top Med Mycol*. 1996;7(1):7-18.
5. Abrams EJ. Opportunistic Infections And Other Clinical Manifestations of HIV Disease in Childrens. *Pediatr Clin North Am*. 2000;47(1):79-109.
6. Negroni R. Micosis asociadas al SIDA. Parte 2. Histoplasmosis. *Vitae*. Disponible en: URL: <http://caibco.ucv.ve/vitae/VitaeNueve/Articulos/micologica1Micosis/ArchivosHTML/Histoplasmosis>. PD
7. Millán L, Díaz M, Hada P, Meléndez R, Ramos A, Martínez G. Histoplasmosis Diseminada en el Curso del SIDA: Informe de un caso. *Rev Cub Med Mil*. 1990;19(1):90-93.
8. Wheat J, Kauffman CA. Histoplasmosis. *Infect Dis Clin N Am* (serial online) 2003 mar 17(1). Available from: URL: <http://mdconsult.com>
9. Fisman DN. Hemophagocytic Syndromes and Infection. *Emerg Infect Dis J*. 2000;6(6).
10. Cahn P, Belloso WH, Murillo J, Prada-Trujillo G. Emerging and Re- Emerging Diseases in Latin America. *AIDS in Latin America*. *Infect Dis Clin N Am* (serial online) 2000 march 14 (1). Available from: URL: <http://mdconsult.com>
11. Dolande M, Reviakina V, Panizo M, Maldonado B. Diagnóstico inmunológico de las micosis sistémicas en pacientes con SIDA. *Rev Soc Venez Microbiol*. 2002;1:26-34.
12. Mathurin S, Lupo S, Alonso O. Fiebre de origen desconocido en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana. *Medicina*. 2000;60(5):623-630.
13. Ampeil NM. Emerging disease issues and fungal pathogens associated with HIV infection. *Emerg Infect Dis*. 1996;2(2).

14. Linarez N, BU Figueroa E, Zelaya R. Histoplasmosis Diseminada asociada a VIH. Presentación de Caso y Revisión. *Rev Med Hondur.* 1999;67(2):159-161.
15. Da Costa N, Gracia L, Salazar F, López Y, Moros C. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida: a propósito de la casuística del Hospital Vargas. *Arch Hosp Vargas.* 1992;34(3):125-130.
16. Vail GM. Cellular immune response in HIV-infected patients with histoplasmosis. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2002;29(1):49-53.
17. Koduri P, Chundi V, DeMarais P, Mizock B, Patel AR, Weinstein R. Reactive hemophagocytic syndrome: A new presentation of disseminated histoplasmosis in patients with AIDS. *Clin Infect Dis.* 1995;21:1463-1465.
18. Brook MG, Ayles II, Harrison C, Rowntree C, Miller RF. Diagnostic utility of bone marrow sampling in HIV positive patients. *Genitourin Med.* 1997;73(2):85-86.
19. Tiab M, Mechinaud F, Harousseau J. Haemophagocytic syndrome associated with infections. *Baillieres best Practic Rev Clin Haematol.* 2000;13(2):163-178.
20. Sasadeusz J, Buchanan M, Speed B. Reactive haemophagocytic syndrome in human immunodeficiency virus infection. *J Infect.* 1990;20(1):65-68.
21. Garbino L. Fungemia in HIV Infected Patients: A 12 Year Study In terciary Care Hospital. *AIDS Patients Care STDS* 2001;15(8):407-410.
22. Karras A, Hermine O. Hemophagocytic Syndrome. *Rev Med Interne.* 2002;23(9):768-778.
23. Pallazi DL, McClain KL, Kaplan SL. Hemophagocytic Syndrome in children: An important diagnostic consideration in fever of unknown origin. *Clin Infect Dis.* 2003;36(3):306-312.
24. Arango M, Cano L, De Bedout C, Estrada S, Gomez I, Franco L, et al. Histoplasmosis y criptococosis diseminada en pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. *Acta Med Colomb.* 1990;15(2):84-91.
25. Lowinger M, Mirazo 1, Corradi H, Hernández O, Rizzi M, Scapiego Washington, et al. Histoplasmosis en pacientes inmunodeprimidos por infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Rev Med Urug.* 1990;6(3):197-202.

# *Candida dubliniensis* en pacientes VIH/SIDA, en Venezuela

Claudia Hartung de Capriles<sup>1</sup>, Sofía Mata-Essayag<sup>1</sup>, Celina Pérez<sup>1</sup>, María Teresa Colella<sup>1</sup>, Arantza Roselló<sup>1</sup>, Carolina Olaizola<sup>1</sup>, Sylvia Magaldi<sup>1</sup>, Teresa Abate<sup>2</sup>

Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela

## RESUMEN

En los últimos años, las enfermedades producidas por hongos han ido en aumento, debido en gran parte a la aparición del síndrome de inmunodeficiencia adquirida. El incremento de estas micosis ha sido más notable en aquellas causadas por especies del género *Candida*, las cuales trae consigo una elevada morbi-mortalidad.

Otras especies no-albicans tales como, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Candida guilliermondii* y más recientemente *Candida dubliniensis* pueden estar involucradas en cualquier tipo de candidiasis. Esta última especie presenta características fenotípicas similares a *C. albicans*, siendo una de la más resaltante la producción de abundantes clamidoconidias. *Candida dubliniensis* al estar estrechamente relacionada desde el punto de vista fenotípico con *C. albicans*, hace dificultosa su identificación, sobre todo con los métodos convencionales de laboratorio y usualmente se ha identificado erróneamente como *C. albicans*. Actualmente existen múltiples opciones para una identificación presuntiva de *C. dubliniensis*, como es el caso de la utilización de paneles de identificación automatizada, medios cromogénicos (CHROMagar *Candida*), el uso del agar Staib, la prueba de la termotolerancia, entre otros; adicionalmente se pueden utilizar métodos de biología molecular los cuales son más específicos y sensibles para realizar una identificación definitiva de *C. dubliniensis*, permitiendo así por primera vez, la identificación fenotípica y genotípica de *C. dubliniensis* y el reporte de casos de candidiasis orofaríngea originada por *C. dubliniensis* en pacientes virus de inmunodeficiencia humana/síndrome de inmunodeficiencia adquirida en nuestro país.

## INTRODUCCIÓN

En 1995, Sullivan y col., en Dublín, República de Irlanda (1), identifican una especie de *Candida* que presenta características fenotípicas similares a *C. albicans*, siendo una de las más resaltante, la producción de abundantes clamidoconidias, emergiendo así una nueva especie, a la cual se denominó *C. dubliniensis*, la cual se aisló por primera vez, a partir de muestras clínicas, provenientes de pacientes VIH/SIDA con candidiasis orofaríngea recurrente.

Como se mencionó anteriormente, esta especie comparte características fenotípicas similares con *C. albicans*, ambas especies forman tubo germinal y producen clamidoconidias. Hasta 1995 estas estructuras se consideraban patognomónicas de *C. albicans*. Por lo cual no es incoherente sospechar que más de una vez se identificaron algunos aislados de *dubliniensis* erróneamente como *albicans* (2,3).

En la actualidad se utilizan varios medios para tratar de realizar un diagnóstico fenotípico que permita diferenciar dichas levaduras, entre los que se pueden mencionar el medio de CHROMagar *Candida* (CHROMagar Microbiology, Paris, France), y el agar Staib; además, la prueba de la termotolerancia y los paneles de identificación automatizada (4). Sin embargo, la identificación definitiva se realiza a través de los métodos de biología molecular (5).

En Venezuela, a la luz de nuestros conocimientos, no ha sido publicado ningún caso en el cual se halla aislado e identificado (fenotípica y genotípicamente) *C. dubliniensis*, a partir de muestras clínicas provenientes de pacientes infectados con VIH/SIDA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 428 *Candida spp* obtenidas de la orofaringe de 402 pacientes VIH/SIDA, con o sin

<sup>1</sup> Sección de Micología Médica, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela.

<sup>2</sup> Sección de Biología Molecular, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela.

orofaringitis recurrente y con o sin tratamiento antifúngico; adicionalmente 26 aislados provenían de pacientes inmunocompetentes, entre enero de 1998 y diciembre de 2002, identificadas presuntamente como *C. albicans* mediante la utilización de los métodos convencionales (6-8). Todos los aislados fueron procesados con el estuche comercial API ID 32 C (BioMerieux, France) (9), en los casos donde se obtuvo un perfil bioquímico atípico en este sistema, se procedió a cultivar los mismos en CHROMagar *Candida* (10), agar Staib (11) y se realizó la prueba de la termotolerancia (6). Los aislados cultivados en el medio de CHROMagar *Candida* fueron incubados a 37° C por 4 a 6 días en oscuridad; en el agar Staib fueron incubados a 25° C por 5 a 7 días; y para realizar la prueba de la termotolerancia se cultivo en agar Sabouraud a 45° C por 3 a 4 días.

Finalmente, se les practicó RAPD, con una secuencia *C. albicans*-específica de oligonucleótidos del elemento CARE2 denominada (Cand-R) (5'-CTCTAAACTGTGCTTGGTG-3') a los aislados que cumplieron como mínimo 3 de los 4 criterios siguientes: producción de colonias color verde oscuro en CHROMagar *Candida*, desarrollo de colonias rugosas color crema con hifas y que al examen microscópico presentaran abundantes clamidoconidias en el agar Staib y/o no crecieran a 45° C. (4). Esta secuencia permite claramente la diferenciación entre especies filogenéticamente muy cercanas como *C. albicans* y *C. dubliniensis* (12).

Se utilizaron 6 cepas control: 1 *C. albicans* (ATCC 90028) y 5 *C. dubliniensis* (S2-5 S2-6, S 2-14, S636, S 645, facilitadas por la Dra. Annette Fothergill, Health Science Center, University of Texas).

### Susceptibilidad antifúngica

Para este estudio se usaron dos métodos, la técnica de la microdilución en pozos del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* M 27 2-A (NCCLS) (13) y el método de los pozos de difusión (PD) (14-16).

### Estudio genotípico de las cepas

Las diferentes cepas se cultivaron en agar Sabouraud por 48 horas a 25° C. Se recolectaron las colonias añadiendo al cultivo 1 mL de Buffer TE pH 8,0 (10mM Tris-HCl pH 8.0), el homogenato se centrifugó a 14 000 rpm y se descartó el sobrenadante. Luego se resuspendió el sedimento, en 200 µL de Buffer TE pH 8.0. Se procedió a la ruptura térmica de las células (3-4 x 10<sup>9</sup> UFC/mL) obtenidas con 3 ciclos de congelar-

descongelar (-70° C por 30 min y 100° C por 10 min). Luego de centrifugar a 400 rpm se guardó el sobrenadante a -20° C hasta su uso. Por último se realizó la lectura espectrofotométrica de A260/A280 la cual debía obtener rangos entre 1,8-2,06 (BIORAD Smartspec™ 3 000).

La mezcla de reacción consistió en 10-100 ng de ADN blanco, 2 U de Taq polimerasa (Fundaim, Venezuela), 1 µg de cada oligonucleótido, 200 µM de cada desoxyribonucleótido trifosfato, y solución buffer hasta llegar a 50 µL. Las amplificaciones se realizaron en un termociclador MJ RESEARCH PTC-150 (1 ciclo a 94° C/10 min, 44 ciclos a 94° C/1 min-36° C/2 min-72° C/2 min, 1 ciclo final a 72° C/10 min). La electroforesis se realizó en un gel de agarosa (2,5 %) en buffer TAE 1x. (0,04M Tris-acetato, 0,001M EDTA), a un voltaje constante de 75 V (BioRad, EE.UU) durante tres horas y media. Se tiñó el gel con una solución de bromuro de etidio (10 mg/mL) por 10 min. Para la recopilación de imágenes se utilizó el sistema KODAK (Electrophoresis documentation and Analysis System 120 Kodak, y Kodak 1D Image Analysis Software).

El análisis estadístico se efectuó con los datos expresados en porcentajes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nuestros resultados sugieren, al igual que ha sido reportado en otras publicaciones, que la detección y diferenciación de esta especie a partir de cultivos de muestras clínicas, requiere de nuevas estrategias de aislamiento en los laboratorios, como son: cultivo en agar Staib, CHROMagar *Candida*, termotolerancia a 45° C, Sabouraud con cloruro de sodio al 6,5 %, entre otros (4).

En este estudio, de un total de 428 presuntas *C. albicans*, se seleccionaron 42 (9,81 %) aislados que presentaron un patrón atípico en API ID 32 C, de las cuales, 12 tenían un patrón API *C. dubliniensis* 7142.1400.15, las mismas además produjeron colonias de color verde oscuro en CHROMagar *Candida*, desarrollaron colonias rugosas de color crema con hifas y abundantes clamidoconidias en el agar Staib y no crecieron a 45° C. Adicionalmente 4, con patrón API de *C. albicans* atípica: 7143.1400.15, produjeron colonias de color verde claro en CHROMagar *Candida*, pero desarrollaron colonias rugosas de color crema con hifas, con abundantes clamidoconidias en el agar Staib y no crecieron a 45° C, identificándose fenotípicamente como *C. dubliniensis*.

Las variaciones de los productos amplificados

con RAPD de las mismas, lograron establecer una diferencia entre *C. dubliniensis* y *C. albicans*. *C. dubliniensis* presentó unos patrones de bandas monomórficas con una doble banda a 700 pb y una banda adicional bien sea doble o sencilla entre 1000-1600 pb, a diferencia de *C. albicans* la cual exhibió banda monomórfica a 500 pb, una doble banda a 600-700 pb y en algunas oportunidades una banda tenue a alrededor de 800-900 pb (Figura 1). Idealmente se deberían utilizar por lo menos dos técnicas de biología molecular para la identificación de esta especie, pero la RAPD utilizada en este trabajo, generó una suficiente discriminación de bandas entre las dos especies y fue económicamente factible.

Entre las pruebas anteriormente mencionadas, nuestros resultados confirman, que agar Staib es un medio sensible y específico para la identificación fenotípica de *C. dubliniensis*, y el cual puede llegar a ser equivalente a las técnicas de biología molecular. Por otra parte, la prueba de la termotolerancia a 45° C por sí sola y el uso de CHROMagar *Candida* no resultaron lo suficientemente sensibles como fue reportado por Kurzai y Korting en el año 2000 (17). Por otra parte en la actualidad, los paneles de identificación automatizados permiten, la tipificación de *C. dubliniensis* (9).

Los 42 aislados evaluados, provenían de pacientes que habían recibido previamente tratamiento con fluconazol y 33 (78,57 %) de estos pacientes presentaban orofaringitis en el momento de tomar la muestra. Los 26 aislados restantes, aunque fueron identificados fenotípicamente como *C. albicans* atípica, presentaron un patrón genotípico que correspondió a *C. albicans*.

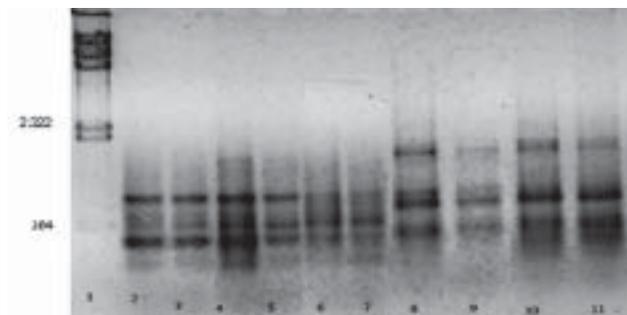


Figura 1. Productos de amplificación del RAPD usando el ligonucleótido CAND-R, aislados de *Candida albicans* (carril 3-7) y aislados de *C. dubliniensis* (carril 8-10: I14Aa, I14Ab, I 52b) y Lambda ADN/Hind III (carril 1) (Aislados Control: carril 2=ATCC 90028 *C. albicans*; carril 11=S636 *C. dubliniensis*) (Gel 2,5 %).

*C. dubliniensis* se reconoce hoy en día como patógeno humano, sin embargo, su prevalencia es significativamente menor que la de *C. albicans* (58 %), la cual sigue siendo la especie predominante en candidiasis orofaríngea en pacientes VIH/SIDA (4). La prevalencia de *C. dubliniensis* fue del 3,98 %, todas obtenidas a partir de la población VIH/SIDA del presente estudio, la cual es similar a la reportada en otros países, Estados Unidos (4,3 %), Bélgica (4,9 %) y España (4,9 %) (18,19), en donde *C. dubliniensis* se reporta principalmente en aquellos pacientes VIH/SIDA que presentan tratamiento previo con fluconazol y/o orofaringitis (20,21). En el Reino Unido y Alemania la prevalencia es más alta (14,4% y 10,7% respectivamente), debido a que se ha estudiado con más énfasis este patógeno (18).

Asimismo, encontramos 4 aislados resistentes al fluconazol, con MICs > 64 µg/mL, lo cual también ha sido previamente reportado (22,23). Usualmente la mayoría de los aislados de esta especie son susceptibles a un amplia gama de antifúngicos, por lo cual pareciera improbable que la aparición de *C. dubliniensis* se debiera a una selección por la terapia antifúngica (4) Aún así el uso continuo e indiscriminado de fluconazol puede promover la resistencia en esta especie e imponer secundariamente una presión selectiva sobre estas cepas resistentes (24). La exposición "in vitro" de *C. dubliniensis* al fluconazol no solo resulta en una selección de aislados con reducida susceptibilidad (25), sino que incrementa la adherencia de esta especie a las células epiteliales y produce un incremento en los niveles de secreción de proteinasas (24). Sin embargo, *C. dubliniensis* es escasa (2 %) entre la flora microbiana normal de la cavidad oral y *C. albicans* sigue siendo la especie más patógena (4).

No obstante, se debe seguir evaluando la presencia de esta especie en esta cohorte de pacientes con el fin de vigilar la emergencia de posible resistencia, debido a la introducción de nuevos antifúngicos.

Esta es la primera vez que en Venezuela se identifica *C. dubliniensis* tanto fenotípica como genotípicamente en pacientes VIH/SIDA.

### Agradecimientos

Agradecemos especialmente a Jakobus de Ward, por la generosa donación de Taq Polimerasa (Fundaim) Instituto de Biomedicina, Caracas y a la Dra. Trina Perrone por su sugerencias en la realización de RAPD. Este trabajo fue financiado por FONACIT proyecto S1-96001936.

## REFERENCIAS

1. Sullivan DJ, Westerneng T, Haynes K, Bennett D, Coleman DC. *Candida dubliniensis* sp nov: Phenotypic molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV infected individual. *Microbiol.* 1995;141:1507-1521.
2. McCullough M, Ross B, Reade P. Characterization of genetically distinct subgroup of *Candida albicans* strains isolated from oral cavities of patients infected with human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol.* 1995;33:696-700.
3. Odds FC, Van Nuffel L, Dams G. Prevalence of *Candida dubliniensis* isolates in yeast stock collection. *J Clin Microbiol.* 1998;36:2869-2873.
4. Sullivan DJ, Moran GP, Pinjon E, Al-Mosaid A, Stokes C, Vaughan C, Coleman DC. Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. *FEMS Yeast Research.* 2004;4:369-376.
5. Soll DR. The Ins and Outs of DNA Fingerprinting the Infectious Fungi. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13(2):332-370.
6. Sullivan D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: Characteristics and Identification. *J Clin Microbiol.* 1998;36(2):329-334.
7. Pinjon E, Sullivan D, Salkin I, Shanley D, Coleman D. Simple, inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol.* 1998;36(7):2093-2095.
8. Feo M. The nascent culture and its use. *Mycopathologia.* 1977;63:185-186.
9. Pincus DH, Coleman DC, Pruitt WR, Padhye AA, Salkin IF, Geimer M, et al. Rapid Identification of *Candida dubliniensis* with Commercial yeast Identification Systems. *J Clin Microbiol.* 1999;37(11):3533-3539.
10. Odds FC, Bernearts R. CHROMagar *Candida* new, differential isolation medium for the presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol.* 1994;32:1923-229.
11. Staib P, Morschhäuser J. Chlamydospore formation on Staib agar as a species specific characteristic of *Candida dubliniensis*. *Mycoses;* 1999;42:521-524.
12. Lishewski A, Harmsen D, Wilms K, Baier G, Gunzer U, Klinker H, et al. Molecular epidemiology of *Candida albicans* isolates from AIDS and cancer patients using a novel standardized CARE-2 DNA fingerprinting technique. *Mycoses.* 1999;42:371-383.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A2. 2002. Wayne, Pa, National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002.
14. Magaldi S, Mata S, Hartung C, Verde G, Deibis L, Roldán Y, Marcano C. "In vitro" susceptibility of 137 *Candida* sp. isolates from HIV positive patients to several antifungal drugs. *Mycopath.* 2000;149:63-68.
15. Magaldi S, Rios A, Hartung C, Verde G, Spencer L, Mata S. In vitro susceptibility to fluconazole of *Candida* spp isolates comparing three different methods. *J Mycol Med.* 2001;11:123-126.
16. Magaldi S, Mata-Essayag S, Hartung de Capriles C, Perez C, Colella MT, Olaizola C, Ontiveros Y. Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *I. J. I. D.* 2004;8:39-45.
17. Kurzai O, Korting H, Harmsen D, Bautsch W, Monitor M, Frosch M, Mühlischlegel F. Molecular and phenotypic identification of the yeast pathogen *Candida dubliniensis*. *J Mol Med.* 2000;78:521-529.
18. Sullivan D, Moran G, Donnelly S, Gee S, Pinjon E, McCartan B, et al. *Candida dubliniensis*: An Update. *Rev Iberoam Micol.* 1999;16:72-76.
19. Coleman DC, Bennett DE, Sullivan DJ. *Candida* in HIV infection and AIDS. New preventive/new approaches. *Crit Rev Microbiol.* 1993;19:61-82.
20. Mühlischlegel F, Frosch M. The relevance of *Candida* species other than *Candida albicans* as opportunistic pathogens. *Mycoses.* 1999;42:194.
21. Prasad R, Panwar SL, Smriti. Drug resistance in yeasts-an emerging scenario. *Adv Microb Physiol.* 2002;46:155-201.
22. Pfaller MS, Messer SA, Gee S, Joly S, Pujol C, Sullivan DJ, et al. In vitro susceptibilities of *Candida dubliniensis* isolates tested against the new triazoles and echinocandin antifungal agents. *J Clin Microbiol.* 1999;37:870-872.
23. Martínez M, López-Ribot JL, Kirkpatrick WR, Coco BJ, Bachmann SP, Patterson TF. Replacement of *Candida albicans* with *C. dubliniensis* in human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis treated with fluconazole. *J Clin Microbiol.* 2002;40:3135-3139.
24. Borg-VonZepelin M, Niederhaus T, Gross U, Seibold M, Monod M, Tintelnot K. Adherence of different *Candida dubliniensis* isolates in the presence of fluconazole. *AIDS.* 2002;6:1237-1244.
25. Moran GP, Sullivan DJ, Henman MC, McCreary CE, Harrington BJ, Shanley DB, Coleman DC. Antifungal drug susceptibilities of oral *Candida dubliniensis* isolates from human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected subjects and generation of stable fluconazole-resistant derivatives "in vitro". *Antimicrob Agents Chemther.* 1997;41:617-623.

## *Candida spp* en pacientes VIH/SIDA

Claudia Hartung de Capriles<sup>1</sup>, Sofía Mata-Essayag<sup>1</sup>, Celina Pérez<sup>1</sup>, María Teresa Colella<sup>1</sup>, Arantza Roselló<sup>1</sup>, Carolina Olaizola<sup>1</sup>, Sylvia Magaldi<sup>1</sup>, Leopoldo Deibis<sup>2</sup>, Teresa Abate<sup>3</sup>, Judith Ontiveros<sup>4</sup>

### RESUMEN

La candidiasis es la infección fúngica más frecuente en pacientes VIH seropositivos y con SIDA, siendo *C. albicans* la especie que predomina. En estos pacientes, la candidiasis se manifiesta más comúnmente como orofaringitis, con una incidencia que oscila entre 45 % y 95 % de todos los casos. En Venezuela son pocos los reportes que existen acerca de esta entidad en pacientes VIH/SIDA, por lo cual uno de los objetivos de esta investigación fue evaluar este aspecto.

Se estudió una cohorte de 402 pacientes con VIH/SIDA con o sin orofaringitis y con o sin tratamiento antifúngico. Las especies de *Candida* más importantes aisladas, fueron: *C. albicans* (80,41 %), *C. tropicalis* (8,78 %), *C. glabrata* (4,90 %), *C. dubliniensis* (3,26 %). Se evaluó la susceptibilidad de los diferentes aislados a las drogas antifúngicas con el método de la NCCLS y el método de los pozos de difusión. El 37,5 % *C. albicans* provenientes de pacientes con tratamiento antimicótico fueron resistentes al fluconazol (resistencia secundaria) y 23,95 % mostraron también resistencia al itraconazol (resistencia cruzada). Los aislados obtenidos se tipificaron a través de la reacción en cadena de la polimerasa (RAPD) y se estableció la que la misma representa una técnica útil para diferenciar *Candida spp*.

En esta cohorte de pacientes evaluados, las características clínicas y demográficas son similares a las reportadas mundialmente, y que desde la introducción del TARGA, la frecuencia de las infecciones por *Candida spp* disminuyó. Hasta la presente fecha, en Venezuela no se había reportado el hallazgo de *C. dubliniensis* (3,26 %).

### INTRODUCCIÓN

La candidiasis orofaríngea puede ser la primera manifestación de infección por el VIH, un 80 %-90 % de estos pacientes desarrollan esta entidad en algún momento durante el transcurso de su enfermedad (1-2), sobre todo en aquellos con un conteo de linfocitos T CD4+ <200 cel/mm<sup>3</sup>. Esta proporción se mantuvo en la década de los 90 (3) y prevalece hasta el presente, en aquellos países en donde los pacientes, tienen un acceso seguro al TARGA (Terapia anti-retroviral de gran efectividad) como es el caso de algunos países de Latinoamérica (3).

Aunque *C. albicans* es el agente fúngico que más frecuentemente se aísla en dichos pacientes, otras especies de *Candida* han sido reportadas, entre las cuales se incluyen *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. dubliniensis*. La emergencia de las especies no-*albicans* se ha observado particularmente en los pacientes que han seguido una terapia antifúngica prolongada con drogas imidazólicas (4-9).

Con el uso de las nuevas técnicas de biología molecular, se ha logrado entender ciertos aspectos de la epidemiología de la candidiasis en esta cohorte de pacientes. Algunos investigadores han encontrado que durante el curso del tratamiento pueden ocurrir reemplazos de cepas o una infección con una especie intrínsecamente resistente, la transmisión horizontal de las mismas cepas entre parejas y además en un determinado paciente, el mismo subtipo de ADN de *C. albicans* se mantiene a través de múltiples infecciones (4,5,10-13).

A causa de la naturaleza recidivante de la candidiasis orofaríngea en estos pacientes, muchos de ellos reciben fluconazol continua o intermitentemente por largos períodos de tiempo, siendo esta la razón por la cual se presenta resistencia a esta droga. Se estima que ocurre en aproximadamente 10 % de tales pacientes (14). En un estudio reciente hecho en España con 103

<sup>1</sup> Sección de Micología Médica, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela.

<sup>2</sup> Instituto de Inmunología, Universidad Central de Venezuela.

<sup>3</sup> Sección de Biología Molecular, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela.

<sup>4</sup> Universidad Centrooccidental Lisandro Alvarado.

pacientes VIH positivos con lesiones orales y/o faríngeas se encontró que el 50 % de las cepas resistentes al fluconazol resultaron resistentes al itraconazol, aun cuando ninguno de los pacientes fue tratado con esta última droga (15). Por todo lo antes expuesto se hace necesario realizar estudios de susceptibilidad antifúngica a *Candida spp* en este grupo de pacientes.

Desde 1996, con la aparición del esquema del TARGA para el VIH, la morbi-mortalidad ocasionada por las infecciones oportunistas, han disminuido, incluyendo la candidiasis orofaríngea, en estos pacientes (16-18).

En Venezuela son escasos los reportes de la epidemiología de *Candida spp* en pacientes VIH/SIDA, por lo cual el objetivo de este estudio es evaluar este aspecto en esta cohorte de pacientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo de un total de 402 pacientes VIH/SIDA con o sin orofaringitis que acudieron al Instituto de Inmunología y a la Sección de Micología Médica del Instituto de Medicina Tropical de la Universidad Central de Venezuela y en un período comprendido entre enero 1998 y diciembre 2002.

Durante este lapso se pretendió concretar por lo menos 3 ó 4 visitas clínicas en los pacientes evaluados. Se elaboró una historia médica que refleja los datos personales, antecedentes y todos los exámenes de laboratorio practicados a los pacientes (Número de historia, nombre, fecha, N° de ficha, parámetros de laboratorio: linfocitos T-CD4 (Valor Absoluto y Porcentaje), carga viral (CV); síntomas de orofaringitis (Disfagia (DI), Odinofagia (OD); signos de orofaringitis (lesiones mucosas blanquecinas (LMB); tratamiento antirretroviral (AR) y el tratamiento antimicótico (AM).

### Aislamiento *Candida spp*

Las muestras clínicas fueron obtenidas a partir de un exudado faríngeo y sometidas al examen directo con KOH y tinta Parker. El cultivo se realizó en el medio de bilis-agar Feo (19) y en Sabouraud (20), utilizando el método de aislamiento por agotamiento. Se estudiaron 6 colonias de cada muestra clínica para asegurar la pureza y homogeneidad del aislado (20). Los aislados así obtenidos fueron conservados en la Micoteca de la Sección de Micología Médica del Instituto de Medicina Tropical (IMT), mediante repiques continuos en agar Sabouraud.

Cepas control: *C. albicans* 90028, *C. glabrata*

90030, *C. parapsilosis* 22019, *C. krusei* 6258 procedentes de la ATTC (*American Type Culture Collection*) y 5 *C. dubliniensis* (S2-5, S2-6, S2-14, S636, S645), *C. tropicalis* S594, *C. tropicalis* S623B, *C. albicans* S621, *C. albicans* 623 provenientes de *Health Science Center, University of Texas USA*, Dra. Anette Fothergill.

Medios de cultivo: Agar Sabouraud [20]; Bilis agar Feo [19]; CHROMagar *Candida* (CHROMagarMT Microbiology, Paris, Francia [21] y Agar Staib [22].

Métodos automatizados de identificación rápida de levaduras: API System, ID 32 C estuche (Bio Merieux SA, Marcy l'Etoile, Francia).

Susceptibilidad antifúngica: Se usaron dos métodos, la técnica de la microdilución en pozos M27 2-A (NCCLS) (23,24) y el método de los pozos de difusión (PD) (25). Se aplicaron los criterios de interpretación acordados por la NCCLS (24) de los discos de difusión para la técnica de PD (4).

Antimicóticos: anfotericina B, fluconazol, itraconazol, caspofungina, pozaconazol. Para los puntos de corte de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de caspofungina (CAS) y de pozaconazol se utilizaron los publicados por Magaldi y col. 2004 (25).

Estudio genotípico de las cepas: las cepas se cultivaron en agar Sabouraud por 48h a 28° C. Se recolectaron las colonias con 1 mL de Buffer TE pH 8.0 (10mM Tris-HCl pH 8.0), se centrifugó el homogenato a 14 000 rpm. y se descartó el sobrenadante. Luego se resuspendió el sedimento en 200 µL de Buffer TE pH 8.0. Se procedió a la ruptura térmica de las células obtenidas (3-4 x 10<sup>9</sup> UFC/ml), mediante de 3 ciclos de congelar-descongelar (-70° C/30 min. y 100° C/10 min.). Luego de centrifugar a 400 rpm se guardó el sobrenadante a -20° C hasta su uso.

RAPD: se utilizó la técnica de RAPD (amplificación al azar de segmentos polimórficos de ADN), con un solo cebador 5'-CTCTAAACTGTGCTTGCTG-3' (Cand-R), basado en un oligo específico de una secuencia conocida (CARE-2), que permite claramente la diferenciación entre especies filogenéticamente muy cercanas (13,26). La amplificación se realizó en un volumen final de 50 µL para la mezcla de reacción: 10-100 ng de ADN blanco, 2 U de Taq polimerasa (Fundaim, Caracas, Venezuela), 1 µg de cada oligonucleótido, 200 µM de cada desoxirribonucleótido trifosfato completando con la solución buffer. Las amplificaciones se realizaron en un termociclador MJ RESEARCH PTC-150 con las condiciones de amplificación siguientes: 1 ciclo de 94° C/10 min, 44 ciclos de

94° C/1 min.-36° C/ 2 min.-72° C/2 min y 1 ciclo final de 72° C/10 min. La electroforesis se realizó con un volumen de la muestra de 10 µL y 2 µL de buffer de carga, en gel de agarosa 1,7 % en buffer TAE 1x. (0,04M Tris- acetato, 0,001M EDTA). Las muestras se corrieron a un voltaje constante de 75 V con una fuente de poder BioRad (EEUU) durante 3,5 h. Se tiñó el gel con una solución de bromuro de etidio 10 mg/mL por 10 min. Para la documentación de los geles se utilizó el sistema de recompilación de imágenes KODAK (Electrophoresis documentation and Analysis System 120 Kodak, y Kodak 1D Image Analysis Software).

### Análisis estadístico

Para el análisis univariante, se utilizaron los datos expresados en porcentajes. Para el análisis bivariante, se utilizó el test de McNemar para estudiar la significación de los cambios de una visita a otra (27). Análisis de correlación canónica generalizada no lineal (ACCGnL). Se utilizó el paquete estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) versión 10.0 en el cual se creó la base de datos correspondiente.

## RESULTADOS

Los parámetros clínicos y demográficos de la cohorte de pacientes estudiados (n = 402) se describen y resumen en la Tabla 1.

Sólo un reducido número de pacientes (88) cumplió el régimen de visitas y/o los exámenes de laboratorio complementarios, por lo cual en su mayoría desconocemos la evolución de la candidiasis y el tratamiento antirretroviral que cumplían los mismos.

En el transcurso de nuestro estudio, empezamos a observar, la disminución de candidiasis orofaríngea en los pacientes VIH/SIDA, sobre todo en el grupo de 88 pacientes que acudió regularmente a la consulta externa del Instituto de Inmunología, UCV, los mismos recibían terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA).

De 702 muestras procesadas se obtuvieron en total 490 aislados, en 30 muestras se aisló más de una especie de *Candida* y se identificaron en orden de frecuencia las siguientes especies: *C. albicans* (80,41 %), *C. tropicalis* (8,78 %), *C. glabrata* (4,90 %), *C. dubliniensis* (3,27 %), *C. parapsilosis* (1,63 %), *C. krusei* (0,41 %), *C. guilliermondii* (0,41 %) y *C. lipolytica* (0,20 %). Todos los aislados de *C. dubliniensis*, fueron identificados fenotípica y genotípicamente.

En el grupo de 88 pacientes hubo un aumento

Tabla 1

Características clínicas y demográficas de los pacientes (n = 402), primera visita

Características	Visita 1 (n)	(%)
Sexo		
Masculino	371	92,29
Femenino	31	7,71
Edad años		
Media	36,02	
Rango	22-55	
Grupo (n = 289)	n	(%)
Hombre con Hombre MSM	328	81,59
Heterosexual	37	9,20
Bisexual	25	6,21
Transfusión	1	0,25
Drogas	1	0,25
Contaje de células CD4/mm <sup>3</sup>	n	(%)
> 500	215	53,48
499-350	86	21,39
349-200	32	7,96
199-100	34	8,46
99-50	19	4,73
49-0	16	3,98
CV >5000cop/mL	198	49,25
≤5000cop/mL	204	50,75
Candidiasis orofaríngea		
Sintomáticos	279	69,40
Asintomático	123	30,60
Tratamiento previo con fluconazol	287	71,39
Otro antimicótico	45	11,19
Sin tratamiento antimicótico	70	17,41

de los cultivos negativos del 4,48 % al 77,27 %, entre la primera a la tercera visita. Sin embargo, el orden de frecuencia de las diferentes especies se mantuvo para las distintas visitas, con excepción de la tercera visita, en donde se invirtió el orden de *C. tropicalis* y *C. glabrata*.

Además se evidenció una disminución notoria de candidiasis orofaríngea en los pacientes evaluados, disminuyendo significativamente del 16 % al 2 % (P = 0,000), y una disminución de los aislados de *Candida spp* obtenidos, del 89,77 % en la primera visita a 22,73 % en la tercera visita, lo cual fue relacionado con el uso del TARGA. El cual se incrementó desde la primera visita (61,4 %) a la segunda visita y tercera visita (87,5 %). En cuanto a los parámetros de laboratorio, para la primera visita 32 % de los pacientes presentaron niveles de linfocitos de T CD4<200 cel/mm<sup>3</sup>, 39 % con niveles de porcentaje de linfocitos T CD4<14 % y 48 % con niveles de Carga Viral >5000 copias/mL. En contraste se observó que para la tercera visita hubo una disminución en estas manifestaciones, es decir, el 16 % de los pacientes presentaban TCD4<200 cel/mm<sup>3</sup>, 18 % con niveles de porcentaje de

linfocitos TCD4 <14 % y 8 % con CV > 5 000 copias/mL, siendo significativos los cambios de la primera a la tercera visita (P= 0,000).

El uso del TARGA resultó inversamente proporcional al uso de los antimicóticos. Disminuyendo el uso de antimicóticos de un 83 % al 4 %, lo cual está en correspondencia con la disminución de los signos y síntomas de orofaringitis en los pacientes a lo largo del período de estudio. Además mediante un estudio estadístico de carácter exploratorio, (ACCGnL), las cargas canónicas revelaron que, la disminución en la candidiasis orofaríngea, desde la primera a la tercera visita se asoció con el uso de TARGA.

Todos los aislados fueron susceptibles a caspofungina y a anfotericina B. *C. glabrata* mostró 100 % de resistencia al fluconazol, 75 % al itraconazol y 8,33 % al pozaconazol y 4,17 %. Mostró dosis dependencia a la anfotericina B. *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* y *C. lipolytica* se mostraron susceptibles a todos los antimicóticos estudiados, mientras que *C. krusei* sólo fue susceptible a anfotericina B. Las especies restantes mostraron ser sensibles a la mayoría de los antimicóticos, sólo 3,39 % aislados de *C. albicans* con tratamiento previo de fluconazol, mostraron resistencia al pozaconazol. Las resistencias mostradas al fluconazol e itraconazol se resumen en la Figura 1.

El ADN genómico de las diferentes especies generó patrones variables de bandas polimórficas. Con este método se pudo evidenciar un patrón idéntico de *C. albicans* aisladas en el paciente JB en su primera y segunda visita respectivamente (carril 1,2), y un hecho similar en el paciente JP en su primera y segunda visita

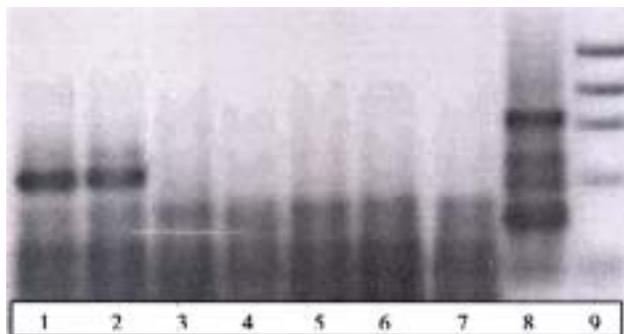


Figura 1. Perfiles de RAPD con oligonucleótido Cand-R, Paciente 1 (JB) (carril 1-2), Paciente 2 (JP) (carril 3-4), Paciente 3 (SH) (carril 5 primera visita, segunda visita, -6), tercera visita (carril 6), cuarta visita (Carril 7), *C. dubliniensis* (Carril 8), Marcador Lambda ADN/Hind III( Carril 9) (Gel 2 %).

(carril 3,4), también se constató transmisión horizontal de la misma cepa a su pareja SH (carril 5,6). Estos últimos 4 aislados identificados fenotípicamente como *C. albicans*, presentaron el mismo patrón de sensibilidad con resistencia al fluconazol (Figura 2).

Los RAPD realizados con aislados de *C. albicans* con patrón de resistencia al fluconazol no mostraron ningún patrón específico.

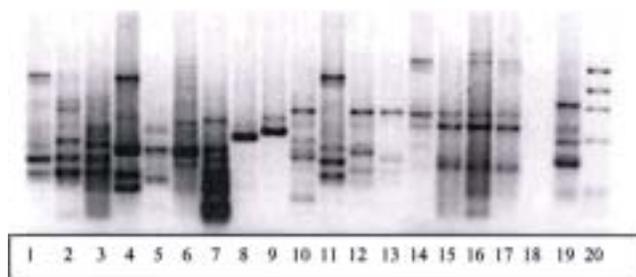


Figura 2. Perfiles de RAPD, *Candida spp* (carril 1-19), Phix Hae III Fragments.std Carril 20, Cand-R *C.glabrata* (paciente X visita: 1 y 2), 3= *C.krusei*, 4=*C.melobiosica*, 5-8= *C.guilliermondii*, 9-11= *C.parapsilosis*, 12-13= *C.tropicalis*, *C.dubliniensis* 14=S645, 15=l1c, 16=l36b, 17 =l51a, 18= control negativo; 19=90028ATCC *C.albicans*, carril 20= Phix Hae III Fragments.std., (Gel 2,8%).

## DISCUSIÓN

Nuestros resultados demostraron que las características clínicas y demográficas son similares a las reportadas mundialmente (18,28,29). Cabe destacar que encontramos una baja incidencia de pacientes infectados por drogadicción endovenosa (0,49 %) o transfusiones (0,49 %), datos muy diferentes a lo reportado en estudios en Europa y Norte América (10,17,18).

En los 88 pacientes que acudieron regularmente a sus 3 controles, observamos una evidente disminución, estadísticamente significativa de orofaringitis (P = 0,000). El incremento del uso de TARGA en estos pacientes, resultó inversamente proporcional al uso de antimicóticos. La disminución en la candidiasis orofaríngea, desde la primera a la tercera visita se asoció con el uso de TARGA, dato este que fue también observado en los estudios realizados por otros autores (17,18,23,30,31).

*C. albicans* fue la especie que más frecuentemente produjo orofaringitis, dato similar a lo reportado en la literatura universal (3,11,32,34). Por otra parte se ha reportado que especies de *Candida* no-*albicans* producen orofaringitis en pacientes VIH/SIDA, pero siempre en una menor proporción (3,6,18,35). En este estudio no se pudo aclarar el rol de los aislados no-*albicans* como patógenos, debido a que la mayoría de estos provenían de cultivos mixtos con *C. albicans* y el 90,62 % fueron obtenidos de pacientes tratados con fluconazol y candidiasis recurrente (36).

El uso indiscriminado del fluconazol para el tratamiento de enfermedades fúngicas podría ser responsable de la presión selectiva sobre las especies de *Candida* y podría tener impacto sobre la ecología oral de las especies, produciendo un cambio hacia especies intrínsecamente resistentes (*C. glabrata*, *C. krusei*) o aquellas que desarrollan más fácilmente resistencia a esta droga, como por ejemplo *C. dubliniensis*, entre otras (34).

Al realizar la susceptibilidad antifúngica de todos los aislados obtenidos en este estudio, se pudo determinar, que el 40,10 % de las *C. albicans* provenían de pacientes sin tratamiento antimicótico previo. De las mismas, el 8,86 % resultaron resistentes al fluconazol y 3,80 % simultáneamente al itraconazol, pero todas fueron sensibles a la anfotericina B. Esto evidencia una resistencia primaria al fluconazol; raramente se reporta dicha resistencia, sin embargo, algunos autores (12,37), demuestran que los aislados de *C. albicans* de una pareja fueron genéticamente idénticos y mostraron el mismo patrón de resistencia a esta droga, aun cuando, uno de los integrantes de la pareja jamás recibió tratamiento, esto se denomina transmisión horizontal. En el presente estudio se pudo corroborar lo antes descrito, al encontrar aislados fenotípicamente y genotípicamente idénticos, resistentes al fluconazol en una pareja de pacientes en sus distintas visitas (Figura 3), como pudo ser demostrado a través de la técnica de biología molecular RAPD, adicionalmente con esta técnica se logró una identificación intra- e interespecie de *Candida* (Figura 4). El análisis de RAPD es relativamente sencillo, reproducible, y representa una técnica útil para la identificación de estas especies. Sin embargo, todavía queda poco claro, si la resistencia emerge como resultado de una selección de sub-poblaciones preexistentes de organismos resistentes, o si se debe al desarrollo de mutantes resistente a la droga durante el tratamiento (38).

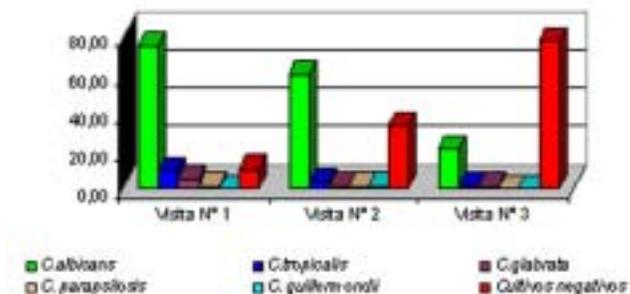


Figura 3. Resumen de la frecuencia de aislados de *Candida* spp. Grupo de 88 pacientes, con asistencia regular de 3 visitas.

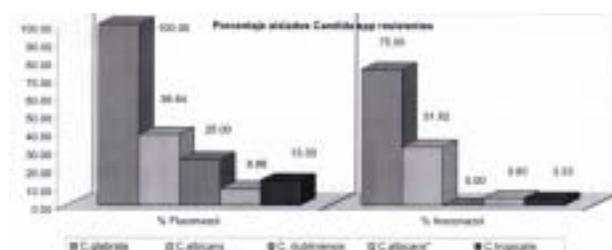


Figura 4. Porcentaje de aislados de *Candida* spp. Resistentes a fluconazol e itraconazol.

Al evaluar el resto de aislados de *C. albicans* provenientes de pacientes con tratamiento antimicótico previo (fluconazol), fueron resistentes al fluconazol, lo cual evidencia una resistencia secundaria y 31,82 % de las mismas mostraron también resistencia cruzada al itraconazol y 0,42 % a la anfotericina B. La alta resistencia de aislados de *C. albicans* al itraconazol, puede ser consecuencia de una resistencia cruzada con el fluconazol, debido a que los mecanismos de acción de ambas drogas se basan en el mismo principio (6,12,39,40,41). Esta alta incidencia concuerda con un estudio realizado por Rodero en 1996, en el cual reporta que un 50 % de los aislados de *C. albicans* mostraron resistencia cruzada con itraconazol, a pesar de que los pacientes no habían sido tratados con esa droga (39).

Fluconazol e itraconazol son las drogas más ampliamente usadas para el tratamiento de la candidiasis orofaríngea, se destaca el fluconazol debido a que se administra por vía oral y posee

escasos efectos colaterales. Sin embargo, el tratamiento con esta droga resulta en muchos casos poco efectivo, debido a la importante disminución de los linfocitos T-CD4+ en estos pacientes, lo cual permite la aparición de lesiones recidivantes. Por esta razón los pacientes reciben terapias continuas o intermitentes por largos períodos de tiempo, que en la mayoría de los casos, finalizan en fracaso terapéutico y la concomitante aparición de cepas resistentes a esta droga (42,43).

El estado avanzado de inmunosupresión con disminución de células CD4 < 50/mL, el uso indiscriminado del fluconazol a una dosis total de 10 g, han sido significativamente asociados con el desarrollo de resistencia en esta población (44). Sin embargo, a pesar de la notoria evidencia de que emergen aislados de *Candida spp* con resistencia al fluconazol en estos pacientes, existen otros factores no relacionados con el fluconazol que pueden determinar la falla terapéutica con esta droga, como son: tratamiento irregular por el paciente, nivel de inmunosupresión, inadecuada absorción de la droga y/o niveles en sangre, inclusive la interacción con otras drogas. En el presente estudio, la mayoría de los aislados de *Candida spp*, que mostraron resistencia cruzada con fluconazol, se obtuvieron de pacientes con estado avanzado de SIDA que poseían un bajo conteo de células T CD4+, y una historia de tratamiento antifúngico prolongado por una candidiasis orofaríngea y/o esofágica recurrente, lo cual coincide igualmente con reportes de la literatura (28,29,44,46).

Todos los aislados de *C. glabrata* y *C. krusei* fueron resistentes a las drogas imidazólicas, no así para la anfotericina B y para los antifúngicos nuevos, tales como pozaconazol y caspofungina. Estos resultados son congruentes con los reflejados en otras publicaciones. *C. glabrata* y *C. krusei* se describen como patógenos oportunistas seleccionados por su característica de ser intrínsecamente resistentes (40,48). El aislado de *C. parapsilosis* en cambio, fue altamente susceptible a todas las drogas antifúngicas ensayadas.

Debe resaltarse que en el presente estudio, todas las colonias obtenidas a partir de un mismo hisopado orofaríngeo desarrollaron un mismo patrón de susceptibilidad, en contraposición con Le Guennec los cuales encontraron que colonias de *C. albicans* aisladas de un mismo paciente podían exhibir diferentes susceptibilidades al fluconazol, reflejando algunas alta resistencia y otras susceptibilidad al mismo (47).

La resistencia a las diferentes drogas

imidazólicas pareciera ser un problema creciente entre la población de pacientes VIH/SIDA con candidiasis orofaríngea en Venezuela. Los datos más recientemente publicados en Europa y Estados Unidos de América reflejan una disminución de esta tendencia, debido al uso más prudente de estas drogas (36).

Con respecto a las pruebas de susceptibilidad antifúngica, con el método PD obtuvimos un promedio de valores de CMI de los aislados estudiados, para CAS (Caspofungina), similar a los valores encontrados por Pfaller (48). Hasta los momentos no se ha establecido un punto de corte CMI para pozaconazol.

Todos los pacientes con aislados de *Candida* resistentes, curaron de la candidiasis después de recibir el TARGA. Esto podría deberse a un efecto antifúngico adicional de los inhibidores de proteasas (49). Más aún, utilizando el TARGA se pudo demostrar una correlación significativa de los niveles bajos en plasma del RNA del VIH con baja incidencia de orofaringitis y escasa presencia de *Candida* y una disminución en la presencia de infecciones oportunistas en esta población, independiente de la recuperación de células T CD4+ (18,23,31,49).

## REFERENCIAS

1. Walmsley S, King S, McGeer A, Ye Y, Richardson S. Oropharyngeal candidiasis in patients with human immunodeficiency virus: Correlation of clinical outcome with in vitro resistance, serum azole levels, and immunosuppression. *Clin Infect Dis.* 2001;32(11):1554.
2. Patton LL, Bonito AJ, Shugars DA. A systematic review of the effectiveness of antifungal drugs for the prevention and treatment of oropharyngeal candidiasis in HIV-positive patients. *Oral Surg Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;92(2):170-179.
3. Jarwin WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections with emphasis on *Candida* species. *Clin Infect Dis.* 1995;20:1526-1530.
4. Mata-Essayag S, Baily GG, et al. Karyotyping of fluconazole-resistant yeasts with phenotype reported as *Candida krusei* or *Candida inconspicua*. *Int J Syst Bacteriol.* 1996;46:35-40.
5. Casanova RO, Caillot D, Solary E, Bonotte B, Chavanet P, Bonon A, et al. Prophylactic fluconazole and *Candida krusei* infection. *N Engl J Med.* 1992;326:891.
6. Barchiesi F, Hollis RJ, McGough DA, Scalise GT, Rinaldi MG, Pfaller MA. DNA subtypes and fluconazole susceptibilities of *Candida albicans* isolates from the oral cavities of patients with AIDS. *Clin Infect Dis.* 1995;20:634.
7. Fidel PL Jr., Vasquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: Review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(1):80-96.
8. Fegeler W, Bille J, Dupont B, et al. Distribution of yeast species in clinical routine diagnostic specimen and their susceptibility against fluconazole, voriconazole and flucytosine. *Mycoses.* 1999;42(3):174.

9. Klepser ME. Antifungal resistance among *Candida* species. *Pharmacotherapy*. 2001;21(8):124.
10. Boerlin P, Boerlin-Petzold F, Durussel C, Addo M, Pagani JL, Chave JP, Bille J. Cluster of oral atypical *Candida albicans* isolates in a group of human immunodeficiency virus positive drug users. *J Clin Microbiol*. 1995;33:1129-1135.
11. Powderly WG, Robinson K, Keath EJ. Molecular epidemiology of recurrent oral candidiasis in human immunodeficiency virus-positive patients: Evidence for two patterns of recurrence. *J Infect Dis*. 1993;168:463-466.
12. Dromer F, Improvisi L, Dupont B, Eliasiewicz DM, Pialoux G, Fournier S, Feuillie V. Oral transmission of *Candida albicans* isolates between partners in HIV-infected couples could contribute to dissemination of fluconazole-resistant isolates. *AIDS*. 1997;11:1095-1101.
13. Soll DR. The Ins and Outs of DNA Fingerprinting the Infectious Fungi. *Clin Microbiol Rev*. 2000;13(2):332.
14. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ. Activities of fluconazole and voriconazole against 1.586 Recent Clinical Isolates of *Candida* Species Determined by Broth Microdilution, Disk Diffusion, and E-test Methods: Report from The ARTEMIS Global Antifungal Susceptibility Program, 2001. *J Clin Microbiol*. 2003;41(4):1440-1446.
15. Balkis, et al. Mechanism of fungal resistance: An overview. *Drugs*. 2002;62(2):1025-1040.
16. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *New Engl J Med*. 1998;38:853.
17. Kaplan JE, Hanson D, Dworkin MS, et al. Epidemiology of human immunodeficiency virus-associated opportunistic infections in the United States in the era of highly active antiretroviral therapy *Clin Infect Dis*. 2000;30:5-14.
18. Haddad NE, Powderly WG. The changing face of mycoses in patients with HIV/AIDS. *The AIDS Reader*. 2001;11:365.
19. Feo M. The nascent culture and its use. *Mycopathologia*. 1977;63:185-186.
20. Rippon JW. Candidiasis and the pathogenic yeasts. En: Rippon JW, editor. *Medical Mycology: The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*, 3ª edición. Filadelfia: WB Saunders Co.; 1988.p.532-581.
21. Odds FC, Bernaerts R. "CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species". *J Clin Microbiol*. 1994;32(8):1923-1929.
22. Staib F, Arastéh K. Chamydospore formation on Staib agar. Observation made before *Candida dubliniensis* was described. *Mycoses*. 2001;44:23-27.
23. Korting H, Schaller M, Eder G, Hamm G, Böhmer U, Hube B. Effects of the Human Immunodeficiency Virus (HIV) Proteinase Inhibitors Saquinavir and Indinavir on "In Vitro" Activities of secreted Aspartyl Proteinases of *Candida albicans* Isolates from HIV-Infected Patients. *Antimicrob. Agents Chemother*. 1999;43(8):2038-2042.
24. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A2. 2002. Wayne, Pa, National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002.
25. Magaldi S, Mata-Essayag S, Hartung de Capriles C, Perez C, Colella MT, Olaizola C, Ontiveros Y. Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *I J I D*. 2004;8:39-45.
26. Lishewski A, Harmsen D, Wilms K, Baier G, Gunzer U, Klinker H, Wilhelm M, Schwinn A, Haccker J. Molecular epidemiology of *Candida albicans* isolates from AIDS and cancer patients using a novel standardized CARE-2 DNA fingerprinting technique. *Mycoses*. 1999;42:371-383.
27. Jekel JF, Elmore JG, Katz DL. *Epidemiology biostatistics and preventive medicine*. WB Saunders Co.; 1996:107-172.
28. Saballs P, Torres-Rodríguez JM, Salvado M, Sales P, Gilmeno-Bayón JL, Knobel HL. La candidemia en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Estudio retrospectivo de nueve casos. *Rev Iberoam Micol*. 2000;17:2-5.
29. Kaplan JE, Hanson D, Dworkin MS, Frederick T, Bertorelli J, Lindengren ML, et al. Epidemiology of human immunodeficiency virus-associated opportunistic infections in the United States in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2000;30(Suppl):5-14.
30. Pujol CS, Joly S, Lockhart S, Noel S, Tibayrenc M, Soll DR. Parity of MLEE, RAPD and Ca3 hybridization as fingerprinting methods for *Candida albicans*. *J Clin Microbiol*. 1997;35:2348-2358.
31. Cassone A, Tacconelli E, de Bernardis F, Tumbarello M, Torosantucci A, Chiang P, et al. Antiretroviral therapy with protease inhibitors has an early, immune reconstitution-independent beneficial effect on *Candida* virulence and oral candidiasis in human immunodeficiency virus-infected subjects. *J Infect Dis*. 2002;185:188-195.
32. Lischewski A, Ruhnke M, et al. Molecular epidemiology of *Candida* isolates from AIDS patients showing different fluconazole resistance profiles. *J Clin Microbiol*. 1995;33:769-771.
33. Jabra-Rizk MA, Falkler WA, Merz WG, Baqui AM, Kelley JI, Meiller TF. Retrospective identification and characterization of *Candida dubliniensis* isolates among *Candida albicans* clinical laboratory isolates from Human Immunodeficiency Virus (HIV)-infected and non-HIV-infected individuals. *J Clin Microbiol*. 2000;38(6):2423-2426.
34. Martinez M, López-Ribot L, Kirkpatrick W, Brent J, Coco BS, Bachmann S, Patterson, T. Replacement of *Candida albicans* with *C. dubliniensis* in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients with Oropharyngeal Candidiasis Treated with Fluconazole. *J Clin Microbiol*. 2002;40(9):3135-3139.
35. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, et al. International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species in the European SENTRY program: Species distribution and antifungal susceptibility including the investigational triazole and echinocandin agents; SENTRY Participant Group (Europe). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1999;35:19-25.
36. Pfaller MA, Diekema DJ. Role of sentinel surveillance of candidemia: Trends in species distribution and antifungal susceptibility. *J Clin Microbiol*. 2002;40(10):3551-3557.
37. White TC, Marr KA, Bowden RA. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11:382-402.
38. Xu J, Ramos A, Vilgalys R, Mitchell, T. Clonal and Spontaneous origins of Fluconazole Resistance in *Candida albicans*. *J Clin Microbio* 2000;38(3):1214-1226.
39. Rodero I, Bourureira M, Demkura H, Burkett A, Fernández C, Losso M, et al. Infecciones por levaduras: agentes causales y su resistencia a antifúngicos en pacientes pediátricos hospitalizados y en adultos VIH positivos. *Rev Arg Microbiol*. 1997;29:7-15.
40. Van den Bosche H, Dromer F, Improvisi I, Lozano-Chiu M, Rex JH, Sanglard D. Antifungal drug resistance in patho-

- genic fungi. *Medical Mycology*. 1998;36(Suppl):119-128.
41. Rex JH, Pfaller MA, Galgiani J, et al. Development of Interpretative Breakpoints for Antifungal Susceptibility Testing; Conceptual Framework and Analysis of in Vitro Correlation data for Fluconazole and Itraconazole and Candida infections. *Clin Infect Dis*. 1997;24:235-247.
  42. Revankar SG, Kirkpatrick RK, McAfee AW, Fothergill SW, Redding MG, Rinaldi MG, Patterson TF. Interpretation of trailing endpoints in antifungal susceptibility testing by the National Committee for Clinical Laboratory Standards method. *J Clin Microbiol*. 1998;36:153-156.
  43. Auereda C, Polanco AM, Giner C, et al. Correlation between in vitro resistance to fluconazole and clinical outcome of oropharyngeal candidiasis in HIV-infected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996;15:30-37.
  44. Revankar SG, Sanche SE, Dib OP. Effect of highly active antiretroviral therapy on recurrent oropharyngeal Candidiasis in HIV-infected patients AIDS. 1998;12:2511-2513.
  45. Powderly WG, Robinson K, Keath EJ. Molecular epidemiology of recurrent oral Candidiasis in human immunodeficiency virus-positive patients: Evidence for two patterns of recurrence. *J Infect Dis*. 1993;168:463-466.
  46. Maenza JR, Merz WG, Pornagnoli MJ, Kernly JR, Moore RD, Gallaret JE. Infection due to fluconazole resistant candidiasis in patients with AIDS. Prevalence and microbiology. *J Infect Dis*. 1997;173(24):28-34.
  47. Le Guennec R, Reynes J, Mallie M, Pujol C, Janbon F, Bastide M. 1995 Fluconazole- and itraconazole-resistant *Candida albicans* strains from AIDS patients: Multilocus enzyme electrophoresis analysis and antifungal susceptibilities. *J Clin Microbiol*. 1995;33:2732-2737.
  48. Pfaller MA, Diekema DJ, Mecer SA, et al. In-vitro activities of Caspofungin compared with those for Fluconazole and Itraconazole against 3.959 Clinical Isolates of *Candida* spp. Including 157 Fluconazole-Resistant Isolates. Abstract: M-1523 Citation: 42nd ICAAC Abstracts, American Society for Microbiology, September 27-30. San Diego, CA, 2002:412.
  49. Mata-Essayag S, Magaldi S, Hartung de Capriles C, Deibis L, Verde G, Perez C. Antifungal activity of protease inhibitors Mycopath. 2000;152:135-142.

Dirección de correo: Claudia Hartung de Capriles.  
Sección de Micología Médica, Instituto de  
Medicina Tropical, Ciudad Universitaria, Los  
Chaguaramos, Apartado Postal 47423, Caracas  
1041, Venezuela.  
Teléfono: +58212605.36.35; +58212975.44.94  
Fax: +58(212)2645792  
E-mail: chartung@cantv.net

# Semblanza del Posgrado de Infectología del Hospital Universitario de Caracas (HUC)

Dra. María J. Núñez

En ocasión de celebrarse 20 años del Posgrado en Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario de Caracas, me llena de orgullo dirigirme a ustedes al abrir este memorable evento.

Desde que el hombre existe, su historia ha estado vinculada a la preocupación por descubrir sustancias que corten el sufrimiento que produce el dolor, bien sea por el dolor mismo o por la incapacidad que la enfermedad genera, al crearse diversos impedimentos físicos o vinculados al orden estético, funcional o afectivo. Por lo tanto, paralela a esta preocupación ha marchado desde la más remota antigüedad, la historia de las enfermedades y la historia de los medicamentos.

La fiebre y la transmisibilidad de las enfermedades tienen una enorme relación con la organización de los pueblos, su cultura, su religión, las guerras, y cada aspecto de la vida diaria. Desde el punto de vista práctico, la historia de las enfermedades infecciosas comprende tres aspectos:

## PRIMERA FASE

La muy temprana: Ya en el Papiro de Ebers se hablaba de la ceguera y su tratamiento con hígado. En la Historia de Grecia se habla de las fiebres hemorrágicas (Guerra del Peloponeso). En el Éxodo, de las plagas de Egipto; hay referencias del castigo al Faraón con enfermedades como el Antrax, la Peste y otras.

En esta fase ya se comienzan a tomar medidas de salud pública, como la prohibición al pueblo hebreo de comer cerdo para evitar enfermedades transmitidas por estos animales como la Triquinosis. Los indígenas usaban la quinina para el tratamiento de la fiebre, así como también raíces de plantas mexicanas para el tratamiento de diversas enfermedades y uso de la Ipecacuana para tratar la diarrea.

En el Siglo XIX hay hechos notables, realizados por dos grandes personajes, Luis Pasteur y Robert Koch, representantes del estudio de las enfermedades infecciosas, con el uso de la vacuna antirrábica, la lucha contra el carbunco, el cólera y el agente transmisor de la tuberculosis.

## SEGUNDA FASE

La primera mitad del siglo XX se ve azotada por una de las grandes pandemias de la humanidad: la gripe española, que se diseminó por todo el continente Europeo y Americano, y causó un gran número de muertes.

A pesar de la gran depresión de los años 30, y a inicios de la Segunda Guerra Mundial, los diferentes proyectos de investigación continúan. Ehrlich desarrolla su trabajo con arsenicales para el tratamiento de la sífilis; Gerhard Domag, en 1935, demostró que el prontosil era útil para el tratamiento de infecciones producidas por estreptococos, usado en animales experimentales y posteriormente en humanos con buenos resultados. Nuevos estudios de esta droga llevaron al conocimiento de las sulfas, derivadas de la misma.

Para los años 1928, 1930 y 1938, un poco antes del inicio de la Segunda Guerra Mundial, se marca la etapa del estudio de la penicilina, con Alexander Fleming a la cabeza. Para los finales de la década del 40 y toda la del 50, aparecen nuevos antibióticos: el cloranfenicol, las tetraciclinas, la estreptomycin, y en la década del 60 y hasta la actualidad, las cefalosporinas, los aminoglicósidos, las quinolonas, los inhibidores de betalactamasas, las cefalosporinas de 4ª generación, las oxazolidinonas, la gramidinas, drogas antimicrobicas y antivirales, incluidas aquí las drogas antirretrovirales.

### TERCERA FASE

El conocimiento del potencial genético de los microbios ha llevado al estudio de la resistencia bacteriana, al uso de vacunas, y posteriormente al estudio de la patogenia de las infecciones que en conjunto con la inmunología han llevado al mecanismo de la sepsis, de la meningitis, de las enfermedades de inmunodeficiencia, entre ellas el SIDA.

El Hospital Universitario de Caracas es un hospital de 3<sup>er</sup> nivel siendo inaugurado en mayo de 1956, y su primer Director fue el Dr. Jorge Soto Rivera, excelente persona, quien era presidente de lo que hoy es el Consejo Directivo, constituido actualmente por un representante del Decano de Medicina, un representante del Rector, un representante de la CTV, dos representantes del Ministro de Sanidad y el Subdirector del Hospital que es el Secretario del Consejo.

El hospital estaba constituido por los diferentes Departamentos Docente-asistenciales y los Departamentos de Farmacia, Radiología, Laboratorio, Mantenimiento, Servicios auxiliares como Emergencia y Enfermedades Transmisibles, y en la década del 60 y luego en el 70, se crean las Unidades de Terapia Intensiva y Diálisis y Transplante, surgidos de la necesidad del quehacer diario y el avance tecnológico.

El día 14 de agosto de 1958, el Ciudadano Decano de la Facultad de Medicina, Dr. Carlos Gil Yépez, solicita ante el Consejo de la Facultad de Medicina la creación del Servicio de Enfermedades Transmisibles del Hospital Universitario de Caracas.

El día 25 de octubre del mismo año el servicio de Enfermedades Transmisibles es inaugurado, siendo el director del hospital el Dr. Olinto Camacho y jefes de servicio el Dr. Ernesto Figueroa en niños y el Dr. Guillermo Olaizola en adultos, residentes Dr. Heberto Reyes en niños, y Dr. Fernando Valarino en adultos, quien fue sustituido posteriormente por el Dr. Antonio Vargas.

El servicio ha estado ubicado en el área física noreste del segundo piso del HUC, cuya rampa de entrada da acceso a la entrada de empleados del hospital. En su etapa inicial se llegó a pensar que dependiera de la Cátedra de Higiene y Medicina Social dirigida por el Dr. Leopoldo García Maldonado, sin embargo, prevaleció la idea de que perteneciera al hospital.

Al comienzo el servicio dependía de la dirección del hospital. Posteriormente en 1961 el servicio fue incorporado al Departamento de Medicina, con el Dr. Henrique Benaim Pinto como

Jefe.

En 1979 el servicio pasa a llamarse Servicio de Enfermedades Infecciosas del Adulto y se considera llevar a concurso el nombramiento de la Jefatura de Servicio. Durante esta etapa participaron en las actividades asistenciales los doctores Guillermo Olaizola como jefe, y Edgard Belfort, Alejandro Mondolfi, Hernán Paublíni, Bianca Apolonia, Heberto Reyes como adjuntos.

Actualmente en la sección de niños trabajan tres excelentes infectólogos, los pediatras Elinor Garrido, Amando Martín e Ivelisse Natera.

A partir de 1976, iniciamos nuestro trabajo en la parte asistencial, nos acompañó el Dr. Hernán Paublíni, excelente médico, un buen clínico. Para esa época el servicio contaba sólo con un residente asistencial con actividad diurna, las actividades nocturnas las cumplían los residentes de medicina interna, con gran devoción aunque bajo protesta.

Igualmente, colaboraron con el servicio médicos de otros departamentos del hospital, así como de fuera del hospital.

Poco a poco, fuimos incorporando residentes con un objetivo principal: cubrir las necesidades asistenciales y ser la semilla en la formación de recursos humanos en el campo de las enfermedades infecciosas en el país.

Así obtuvimos una beca del MSAS a través del Dr. Arcadio Andrade, de la oficina de Recursos Humanos de esa entidad, para un residente, y otros cargos patrocinados por la Dirección del Hospital. El primer residente fue el Dr. Gustavo Nava, quien vino de Valera, Estado Trujillo. Luego ingresan otros residentes, los doctores Mari Pili Plá, el Dr. Pedro Navarro, el Dr. Jesús Castillo y la Dra. Sofía Mata. Participó también la Dra. María Luisa Safar, como pasante. Estos fueron los pioneros, abrieron el camino, atravesaron momentos muy difíciles como todo comienzo. El apoyo del cuerpo directivo del hospital en lo relativo a cargos fue decisivo.

A finales de 1981, el servicio sale a concurso y fui favorecida con la jefatura. Con pena y sin gloria, inicio mi misión, sin dinero, con mucho trabajo, con críticas y tropiezos, pero con un gran entusiasmo, teniendo en mente que no había infectólogos en el país, pero que se podía iniciar un programa de residencia hospitalaria.

La Dra. Marisela Silva, hace una pasantía en el servicio. Cuando estaba a punto de finalizar el Posgrado de Medicina Interna, tenía una buena formación, la invité a participar en esta empresa. La Dra. Silva comienza en enero de 1982. Iniciamos el proyecto, lentamente, con dificultades, y obstáculos, pero no nos amilanamos,

seguimos con constancia, y sin perder el tiempo.

En el año 1983, se incorporan los el Dr. Pedro Navarro y la Dra. Libia Henao, y el equipo estaba formado para la lucha. Hicimos docencia, asistencia en todos los niveles, interconsultas, atención en hospitalización y todo cuanto estuvo a nuestro alcance. Trabajamos: presentamos el proyecto, hicimos entrevistas, celebramos reuniones. Para el momento, 1983, 1984 y 1985, ya llevábamos seis residentes. El día 10-7-84 fue aprobada la Residencia Universitaria en Enfermedades Infecciosas, primer curso en esta especialidad en el País, según informa el Ciudadano Decano de la Facultad de Medicina, Dr. Rosendo Castellanos a la Dra. María J. Núñez, Jefe de Servicio.

A través del tiempo fueron ingresando otros miembros adjuntos al servicio. En 1986, ingresa la Dra. Ana Carvajal y en 1987, la Dra. Ana María Cáceres, en 1989 ingresa la Dra. Adayza Figueredo, en 1995 ingresa la Dra. María Carolyn Redondo, en 1996 el Dr. Napoleón Guevara y la Dra. María Eugenia Landaeta y en el año 2002, ingresa el Dr. Martín Carballo.

El posgrado ha estado en pleno funcionamiento desde 1976, etapa de la residencia asistencial. Hasta 1984, egresaron 18 residentes en infectología y a partir de 1985 hasta el año 2004 egresaron 54 residentes, para un total de 72 médicos especialistas en enfermedades infecciosas. Todos están distribuidos en el país desde Carúpano a Maracaibo, de Caracas a Ciudad Bolívar, de Puerto La Cruz a San Cristóbal, de Maracay a San Fernando de Apure, de La Victoria a Coro y Punto Fijo. Podemos decir que en cada Estado del país hay una semilla fuerte, que germina paso a paso, son el ejemplo de lo que uno siembra y luego cosecha para bien y para satisfacción de los que hemos estado involucrados en esta gran empresa, en la que cada uno de nosotros tiene una cuota de responsabilidad, para dejar un legado a la medicina nacional y al país.

#### **Vienen a mi memoria algunos recuerdos sobre muchos de los egresados**

Sofía Mata, con su andar despacio, tenaz, luchaba por los pacientes, hasta verlos curados. Sus historias con una letra muy pequeña, anotaba todo, "por si las moscas", especialmente lo que se decía en la revista.

Marisol Sandoval, muy seria, buena internista, con su sonrisa como la Mona Lisa hacía que fuera difícil adivinar qué pensaba. Ahora es una exitosa docente en la Universidad de Oriente en Ciudad Bolívar, para orgullo del posgrado.

Las chicas de Valencia: Heidi Mago, Zenaida Castillo, Mílvica Castrillo y Cristina Royero, apuradas para salir temprano los viernes y regresar los lunes casi de madrugada, su rendimiento fue excelente, ahora cada una está en las posiciones que escogieron, en la docencia y salud pública, éxito, y a ti Heidi, lucha y llegarás lejos, para eso tienes una buena formación. Éxito amiga.

Deyanira Puche fue la primerísima, muy querida por los pacientes y las enfermeras, los compañeros de otros posgrados la llamaban "la doctora del pueblo", bienvenida, cosecharás lo que siembres.

Elia Sánchez, muy colaboradora, a veces con lagrimitas, pendiente de todo, hasta de los cumpleaños. Recuerdo los dulcitos que traías, con mucha frecuencia.

Mario Rivera, muy formal, cuestionador, ahora padre de unos morochitos, que han hecho que sea más cariñoso y muy amigable.

Ramiro Torrealba, el gran protector de María Eugenia, buen amigo.

Francisco Pérez, acelerado, siempre temeroso de ir a la cafetería. Y María Eugenia lo protegía.

Astrid Ortiz, trabajadora, formal, respetuosa, ahora es una gran amiga.

Rafael Silva, también formal y muy sensible con el idioma, le costó entender algunos venezolanismos.

Ana María González, calladita, a paso lento, a veces se ruborizaba, ahora excelente microbióloga e infectóloga.

Nedda Millán, Germán Angeli, Carlos Coraspe y otros reciban un fuerte abrazo.

Maigualida Khalil, buena internista, estudiosa, generosa, es gran amiga.

Marjorie Rasmeyn siempre protestando, comunicativa y estudiosa, ahora es docente en Coro.

Félix Arias, vas por buen camino, recuerda que no es fácil el éxito en poco tiempo.

A Carmen Blasco, con su cara muy seria, trabajadora, preocupada por los pacientes, que Dios te cuide.

Nuevos residentes, Maribel Morillo, Rosalbina Chacón, Orlando Jiménez, Jair Vargas, Novella Rojas, Marbellys Hernández y Jorge Riera, reciban mis mejores deseos, sigan por el camino del éxito y recuerden que a veces cuesta sudor y lágrimas.

A los que no están con nosotros, que están en el exterior como Harrys Torres, Yannoacellys Febres y Miriam Becerra, les deseo todo el bienestar del mundo, los quiero mucho.

Para José David Contreras una oración a Dios,

y gracias por haber pertenecido a nuestro posgrado con tanta excelencia.

Otros egresados reciban mi caluroso abrazo: Teresa Plata, Beatriz González, Jocays Caldera, Irene Vásquez, María Eugenia Guzmán, ya están en el área de la docencia, tremenda responsabilidad, pero sé que lo harán bien.

Para todos les deseo que en lo que emprendan sean exitosos.

### **Historia del Servicio de Enfermedades Infecciosas del HUC**

El Servicio de Enfermedades Infecciosas del Adulto del HUC ha sido una parte importante en mi vida profesional. Comencé en 1976 y fui jefe de servicio desde 1981 hasta el año 2000. El día que finalicé mis actividades como Jefe, fue un día muy especial. En ese momento fui presa de muchos sentimientos, no es posible precisar cuánto se hizo y cuánto se dejó de hacer...

Sentimientos agradables y otros con un dejo de tristeza, la sensación de que lo hubiera hecho mejor si hubiera contado con la experiencia ahora vivida.

Recuerdo mis comienzos: a Hernán Paublíni, en sus largas revistas y el análisis de los casos, con acierto, su carácter apacible, que persiste hasta ahora, un buen médico; lo puedo considerar un amigo, gracias Hernán por tu amistad.

Al Servicio de Infectología debo todo mi sentir, mi vida académica y parte de la de médico, ya iniciada como estudiante del posgrado de medicina interna y luego docente del mismo, como Coordinadora, bajo la dirección del Dr. H. Benaím Pinto. Paralela a mi actividad, era docente en la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina, que me llenó de experiencia, ahí dejé grandes amigas y muchos conocimientos y experiencia, puedo decir son las bases de la infectología.

Para concretar mis sueños tuve ayudas, en primer lugar de los miembros del Consejo Directivo de este Hospital y algunos Jefes de Servicio como el Dr. Rafael Di Prisco, para ese momento Jefe del Servicio de Dermatología, quien me alentó y me valoró para aspirar a concursar al cargo.

Al comienzo y con poca experiencia de jefe, me dediqué a trabajar, a planificar, primero sola y luego con la compañía de la Dra. Marisela Silva, quien había egresado del posgrado de medicina interna, ordenada como siempre, colaborando activamente en todo lo relativo al proyecto de la formación de Recursos Humanos en Enfermedades Infecciosas.

Marisela tuvo una importante participación, amable, comunicativa, conté con ella en todo, siempre la recuerdo con su andar esbelto por todos los pasillos del servicio, con su entusiasmo, Marisela había sido nuestra alumna en el posgrado de medicina interna. Marisela, eres parte de esta historia.

Luego forman parte del equipo la Dra. Libia Henao y el Dr. Pedro Navarro.

Libia, venía de Filadelfia, quejándose de todo, de la falta de limpieza, de las labores administrativas, andando por el servicio con sus tacones altos y su cartera del mismo color, parecía el título de una obra de teatro, con sus uñas largas, color rojo, muy bonitas, recuerdo a Libia viajando al IVIC de donde traía información nueva, convenciendo a los residentes para que también lo hicieran. De allá traía información de laminina, de adhesinas, de corneocitos y preocupada por la aparición malignocitos. Siempre apurada, parecía que tenía el síndrome de piernas intranquilas. Todos te lo agradecen, los pacientes y los que fueron tu alumnos aún más. Un abrazo Libia.

Pedro Navarro, recién llegado de EE.UU, preocupado por los parásitos, la salud pública y su actividad gremial. Actualmente es un docente muy preocupado, siempre pendiente del presente y futuro de sus colegas, un amigo muy cordial. Pedro, vas por buen camino.

Así pasa el tiempo. La aprobación del posgrado llega en 1984, luego de superar diferentes trabas y dificultades.

Se necesitaba más personal, ésta es la razón por lo que llegan Ana María Cáceres y Ana Carvajal.

Ana María, siempre con problemas con el carro, el telefonito. Su análisis cuidadoso de los casos clínicos es admirable. Siempre sonriente y muy respetuosa con el personal y con sus alumnos. Ana María, has crecido enormemente en capacidad y en voluntad de servicio, no tendría inconveniente en ser tu paciente. Recibe de mi parte mi gran afecto y que encuentres un carro eterno.

Ana Carvajal, recién egresada, entra al servicio con pasos firmes, preocupada por todos, los pacientes, los residentes y hasta del día de pago. Su capacidad va en aumento, ya está a punto de terminar otro posgrado. Siempre con su sonrisa, sus pacientes la quieren mucho, y están permanentemente detrás de ella. Ana recibe un fuerte abrazo.

En 1989 llega la Dra. Adayza Figueredo, también recién egresada, trabajadora y estudiosa, ordenada y con sus conocimientos siempre en

aumento. Como Coordinadora lo ha hecho muy bien. Saludos, Adayza.

Vienen los cuatro más jóvenes:

Napoleón Guevara, muy buen internista, llega desde Mérida, muy formalito. Los residentes lo aprecian mucho, lo nombraron su padrino, siempre va por los caminos de la ciencia, sus pacientes con SIDA lo persiguen y lo quieren, es amable, formal, con su celular pegadito de la misma forma que Ana María, haces muy bien las labores que se te encomiendan. Te agradezco tu apoyo y tu respeto.

Carolyn Redondo, llega en 1994, viene de Boston, trabajadora, estudiosa, pegada a la computadora y también al teléfono. Eres parte importante de nuestro equipo, siempre sonriente. Por tu recto proceder y por tu actitud sincera te auguro un brillante destino. Ahora eres Presidente de la Sociedad de Infectología, sé que lo harás bien, ya tus alumnos te nombraron su madrina. Recibe un fuerte abrazo y mi apoyo en todo lo que emprendas.

Llegamos a María Eugenia Landaeta, siempre entrando apuradita, para llegar a tiempo. Recuerdo tu época de estudiante de Pregrado de Medicina, gremialista, virtud o condición que no has perdido y que te admiro, y te apoyo, he observado tu objetividad y tu lucha por la comunidad médica. Te dedicas a la Sociedad Médica y a la de infectología, te deseo éxito, pues eres capaz, tienes un buen corazón y Dios te guiará.

Al final, otro internista que viene de Mérida, Martín Carballo, es argentino de nacimiento, un

gran país, sé que posees lo bueno que tienen los argentinos que salen fuera de su patria. Te comunicas bien, pero se te pegó el andino en tu seriedad, muy estudioso, con tu mirada incógnita, que hay que adivinar ¿qué piensas? Este es tu servicio y si encuentras piedras en el camino éstas serán de la buena suerte, éxito Martín.

A Gladys Sojo, nuestra eterna enfermera, consejera, objetiva, amiga comunicativa, preocupada por la buena marcha de los residentes, recibe mi afecto y mis buenos deseos. Que Dios te proteja.

Al resto de las enfermeras Lila Abreu, Irma Vivas, Marlene Canelón y las demás, les agradecemos su participación en las labores encomendadas.

A los psiquiatras y psicólogos les damos las gracias por su participación en cada momento que los requeríamos, difícil labor, muy bien cumplida, a veces estimuladora en situaciones complicadas. Adelante amigos.

Belinda Álvarez, Dios está contigo, luchadora.

A Jean Pitteloud, calladito, pegado a su computadora, produciendo material apreciado y al cual todos nos es de gran utilidad. Gracias JJ.

A dos de las secretarías; María Rodríguez y Yusmari Sobil siempre trabajando, admirables, siempre soportándonos. Gracias y abrazos, chicas.

A esta familia les digo que aunque esté de salida, serán siempre los mismos para mí y estarán en mi corazón para toda la vida, les deseo éxito y suerte a todos, alumnos, compañeros y amigos. Que Dios los bendiga.