

Antigenemia temprana de *Cryptococcus* en pacientes asintomáticos VIH positivos en Barranquilla, Colombia

María C. Noguera-Angarita^{1,2,*}, Patricia Escandón-Escobar³, Orlando Silvera-Tapia^{4,5}, María B. Sierra-Díaz^{4,6}, Nury Torres-Alvarez⁷, Leidy Camargo de la Hoz^{1,8}

Resumen

La criptococosis meníngea presenta alta mortalidad mundial, especialmente en población VIH/sida. La OMS recomienda detectar el antígeno capsular de *Cryptococcus* como estrategia para un diagnóstico temprano y poder minimizar complicaciones. **Objetivo:** realizar antigenemia temprana de *Cryptococcus* mediante inmunocromatografía/ensayo de flujo lateral en pacientes asintomáticos VIH+. **Material y método:** estudio descriptivo observacional; entre julio-2016 y mayo-2019 se procesaron mediante ensayo de flujo lateral, muestras de suero de 169 pacientes asintomáticos VIH+, con CD4 ≤ 120 cel/ μ L en Barranquilla, Colombia. Ante resultado positivo, se indicó profilaxis con fluconazol; se hizo seguimiento a todos los casos. **Resultados:** la antigenemia fue positiva en cinco pacientes (2,96%); uno falleció, cuatro recibieron profilaxis y la prueba se negativizó en dos. Los pacientes con resultado negativo inicial no desarrollaron durante el estudio sintomatología compatible con esta micosis. **Discusión:** el ensayo de flujo lateral de *Cryptococcus* está recomendado para el diagnóstico temprano de la criptococosis en población VIH/sida. **Conclusión:** detectar tempranamente el antígeno circulante de *Cryptococcus* mediante ensayo de flujo lateral en pacientes asintomáticos VIH+, permitió instaurar profilaxis oportuna, hacer seguimiento y control para reducir la mortalidad asociada con la criptococosis meníngea.

Palabras clave: antigenemia temprana, CrAg-LFA, ensayo de flujo lateral-LFA, inmunocromatografía

Cryptococcus early antigenemia in HIV positive asymptomatic patients in Barranquilla, Colombia

Abstract

Meningeal cryptococcosis presents high levels of global mortality, especially in the HIV/AIDS population. The WHO recommends detecting the capsular antigen as an important strategy for early diagnosis and be able to minimize complications. **Objective:** Perform early cryptococcal antigenemia by immunochromatographic/lateral flow assay in asymptomatic HIV+ patients. **Material and method:** descriptive observational study; between July-2016 and May-2019, serum samples from 169 asymptomatic HIV+ patients with CD4 ≤ 120 cells/ μ L were processed by lateral flow assay in Barranquilla, Colombia. Given a positive result, prophylaxis with fluconazole was indicated; all cases were followed up. **Results:** antigenemia was positive in five (2.96%) patients; one died; four received prophylaxis, and the test turned negative in two. The patients with an initial negative result, did not developed symptoms compatible with this mycosis during the study period. **Discussion:** lateral flow assay for *Cryptococcus* is recommended for the early diagnosis of cryptococcosis in the HIV/AIDS population. **Conclusion:** early detection of circulating *Cryptococcus* antigen by lateral flow assay in HIV+ patients allowed the establishment of timely prophylaxis, follow-up, and control to reduce mortality associated with meningeal cryptococcosis.

Keywords: early antigenemia, CrAg-LFA, lateral flow assay-LFA, immunochromatography

Introducción

Globalmente, *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*, es la principal especie patógena responsable de meningitis en pacientes VIH/sida y en países con ingresos medios o bajos, una causa importante de morbilidad; en su orden, el África Subsahariana, Asia y la región del Pacífico, América Latina y el Caribe muestran las mayores prevalencias¹. En Colombia,

la criptococosis es la segunda infección oportunista más frecuente del sistema nervioso central-SNC y el subregistro de casos VIH+, limita una atención oportuna²⁻⁴.

Considerada una prueba predictora de morbilidad para la criptococosis meníngea, el ensayo de flujo lateral (LFA, por sus siglas en inglés) es una prueba inmunocromatográfica de tamizaje temprano que emplea una tira reactiva con an-

1 Universidad Metropolitana, Grupo Caribe de Enfermedades Infecciosas, Barranquilla, Colombia.
2 <https://orcid.org/0000-0002-6761-9110>
3 Instituto Nacional de Salud, Grupo Microbiología, Bogotá, Colombia. <https://orcid.org/0000-0003-3029-118X>
4 IPS Vital Salud, Barranquilla, Colombia.
5 <https://orcid.org/0000-0003-3598-5850>
6 <https://orcid.org/0000-0003-2596-9398>
7 IPS de la Costa, Barranquilla, Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-7544-3410>
8 <https://orcid.org/0000-0003-4294-8468>

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: maclarnog@gmail.com / bacteriologos@unimetro.edu.co
Calle 76 No. 42 – 78, Postal Code 080006, Barranquilla, Atlántico, Colombia.

Recibido: 08/09/2020; Aceptado: 13/11/2020

Cómo citar este artículo: M.C. Noguera-Angarita, et al. Antigenemia temprana de *Cryptococcus* en pacientes asintomáticos VIH positivos en Barranquilla, Colombia. Infectio 2021; 25(3): 159-162

ticuerpos monoclonales para detectar el antígeno capsular presente en los cuatro serotipos (A, B, C, D) reconocidos. Es asequible, sencilla, rápida, costo-efectiva y requiere mínima infraestructura; está validada en suero y líquido cefalorraquídeo-LCR con una sensibilidad del 100% y especificidad entre 96,8-99,8%^{5,6}. La OMS recomienda emplearla para el diagnóstico temprano de la enfermedad en adultos VIH+ sin tratamiento antirretroviral (TAR) con CD4 <100 cel/μL (eventualmente CD4 <200 cel/μL) en regiones donde la prevalencia supere 3%; dado un resultado positivo, indica profilaxis con fluconazol-FLU (800 mg/dos semanas; seguidamente 400 mg/ocho semanas); posteriormente, manejo con TAR^{5,7}.

En regiones donde la prevalencia de VIH/sida es alta, la criptococosis es frecuente. En Colombia la incidencia del VIH/sida aumentó desde 2008; Barranquilla, capital del departamento del Atlántico, ocupó el quinto lugar (2018) sobre la media nacional ($27,3 \times 10^5$ habitantes) y fue la segunda ciudad de la Costa Caribe con mayor reporte de casos, después de Cartagena⁸. Además, la prevalencia de la criptococosis para el departamento del Atlántico (2015-2017: $5,08 \times 10^6$ habitantes) casi quintuplicó el reporte previo (1997-2014: $1,04 \times 10^6$ habitantes)^{9,10}. Se hace necesario entonces, diagnosticar tempranamente una micosis oportunista como la criptococosis.

Nuestro objetivo fue realizar detección temprana del antígeno capsular de *Cryptococcus* mediante LFA en sueros de pacientes asintomáticos VIH+ con CD4 ≤120 cel/μL en Barranquilla, Colombia.

Material y método

El presente estudio es descriptivo observacional (julio de 2016 a mayo de 2019); participaron 169 pacientes asintomáticos VIH+ con CD4 ≤120 cel/μL (115 hombres; 54 mujeres,

edad promedio 38 años), sin TAR al momento, adscritos a instituciones prestadoras de salud-IPS de Barranquilla. Previo consentimiento informado y valoración clínica, se recolectaron 177 muestras (en cuatro pacientes, más de una muestra). Se obtuvo sangre del antebrazo (5,0 mL) para determinar antigenemia de *Cryptococcus* en suero por LFA (IMMY, Norman, Oklahoma) según instrucciones del fabricante. Con LFA+ se indicó profilaxis, seguimiento clínico más dos controles de laboratorio (CD4 y LFA)^{3,5}; con LFA(-), seguimiento clínico (síntomatología, adherencia a TAR) más CD4.

Resultados

De 169 pacientes participantes, cinco (2,96%) presentaron LFA+; un paciente (1) desarrolló la criptococosis al desatender recomendaciones profilácticas; sin respuesta al tratamiento intrahospitalario, falleció. Los pacientes 2 y 3 siguieron la profilaxis con LFA negativa en el segundo control y aumento de CD4; sobre el paciente 4, la profilaxis disminuyó notablemente su antigenemia inicial, aumentaron los CD4 manteniéndose hasta el último control; el paciente 5, mantuvo la LFA+ sin mayor modificación, con incremento de los CD4. A mayo (2019), los pacientes 2,3,4 y 5 con LFA+, profilaxis y seguimiento, sobrevivieron (Tabla 1; Figura 1 y Figura 2).

El promedio inicial de CD4 en pacientes LFA+ fue de 58,8 cel/μL; para el último control: 235 cel/μL. El seguimiento clínico en el tiempo hasta marzo de 2019 a 124 (73,4%) pacientes con LFA(-), muestra que ninguno desarrolló la criptococosis; su último promedio de CD4 fue de 241,4 cel/μL; 75% mostraba buena adherencia a TAR (material suplementario en línea).

En nuestro estudio, el tiempo de seguimiento transcurrido de los pacientes 2-3-4-5, está en la Tabla 1, con promedios individuales de 11,5, 13,0, 6,3 y 2,45 meses, respectivamente.

Tabla 1. Seguimiento de pacientes con antigenemia positiva por LFA 2016-2019

Paciente/ sexo/ edad	LFA			Profilaxis indicada/ tratamiento	Control 1			Control 2			Observaciones
	Fecha	CD4 cel/ μL	LFA título		Fecha	CD4 cel/ μL	LFA título	Fecha	CD4 cel/ μL	LFA título	
1/♀/37	18/07 2016	28	1:10	No siguió profilaxis. Tratamiento intrahospitalario por criptocosis meníngea desde 01/08/16: AmB 250 mg/día x 7 días y 5-FC 500 mg c/12 h por 21 días	NA			NA			Ingresó al hospital con cefalea, náuseas/vómito, fiebre y confusión; diagnóstico de criptocosis mediante cultivo positivo del LCR; falleció intrahospitalariamente finalizado el tratamiento
2/♂/27	20/09 2016	75	1:15	FLU: 200 mg/semana desde 09/2016	19/09 2017-(12)	182	Neg	22/08 2018-(11)	232	NR	TAR. Indicada desde 07-2016
3/♂/33	24/10 2016	53	1:20	FLU: 400 mg/día desde 30/11/2016	19/09 2017-(13)	294	Neg	18/10 2018-(13)	364	Neg	TAR. Indicada desde 21-03-2017
4/♀/51	22/05 2018	35	1:640	FLU: 400 mg c/12 h desde 18-05-2018 hasta 17-08-2018	16/10 2018-(4,9)	114	1:20	30/05 2019 (7,7)	115	1:20	Comorbilidad: tuberculosis-TAR indicada desde 10-04-2018
5/♂/33	18/06 2018	103	1:10	FLU 200 mg c/12 h desde 03-08-2018 hasta 01-12-2018	18/09 2018-(3,1)	104	1:20	10/11 2018-(1,8)	229	1:10	TAR indicada desde 09-03-2017

AmB: Anfotericina B; CD4: cel/μL; FLU: Fluconazol; LCR: Líquido cefalorraquídeo; NA: No aplica; Neg: Negativo; NR: No realizado; TAR: Terapia antirretroviral; T: Tiempo (meses) desde la muestra anterior

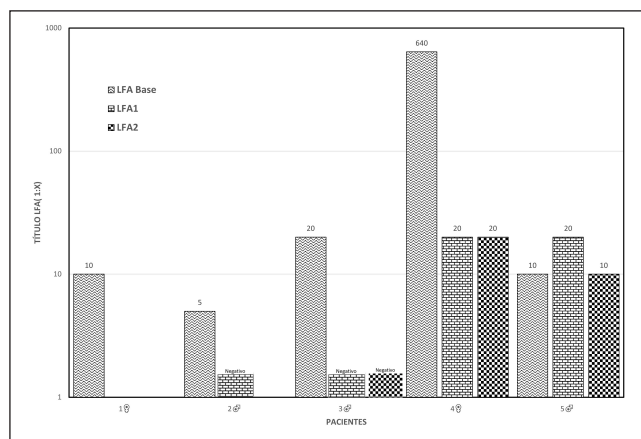


Figura 1. Seguimiento de antigenemia con LFA en pacientes VIH/sida 2016-2019

Discusión

La criptococosis meníngea es responsable del 15% de muertes asociadas con el sida, principalmente en países con ingresos medios o bajos¹. Su incidencia global (2014) fue estimada en 223.100 casos/año con una mortalidad del 81,1%¹. En países desarrollados y gracias a la TAR se observa un cambio favorable, sin embargo, la mortalidad es aún preocupante¹.

En países con recursos limitados como Colombia, el impacto de la criptococosis meníngea se mantiene y su letalidad sigue alta (49,2%)³. La estrategia clave pues, es mejorar el diagnóstico y manejo precoz del paciente VIH+ con criptococosis subclínica, para prevenir complicaciones evitables y disminuir las tasas de mortalidad imputables a la enfermedad^{5,6,11,12}. Los resultados de la vigilancia de la criptococosis desde el laboratorio durante 30 meses (2015-2017) en el departamento del Atlántico, muestran un incremento notable en la prevalencia¹⁰; existe pues, la necesidad de fortalecer el diagnóstico temprano de esta micosis mediante el uso de pruebas sensibles y rápidas.

La aglutinación por látex (LA) es una prueba con buena sensibilidad (83-97%) y especificidad (93-100%) en suero y LCR; sin embargo, resulta costosa en regiones con alta prevalencia de esta micosis^{6,11,12}. Relativamente, LFA es más sensible pero su bondad radica especialmente en poder detectar mínimas cantidades del antígeno circulante desde la fase subclínica (promedio 22 días previos a la sintomatología)³; la prueba LA, en cambio requiere mayor concentración de este. En pacientes asintomáticos, un resultado LFA+ oportuno, permite una intervención temprana para evitar secuelas e incluso la muerte^{3,5,6,12,13}.

Tanto LA como LFA pueden llevarse a escala cualitativa y semicuantitativa, mediante diluciones seriadas de la muestra^{11,12}. Su utilidad además está, en que los títulos predicen tanto la enfermedad meníngea como su desenlace: cuando LFA+ es $\leq 1:80$, la probabilidad de evolución hacia una meningitis es extremadamente baja; sin embargo, los incrementos progresivos guardan una relación lineal con el riesgo de compromiso del Sistema Nervioso Central-SNC, inminente con diluciones superiores a 1:1280¹²⁻¹⁴.

Sobre costo-efectividad de LFA, se ha mejorado la capacidad diagnóstica en regiones con alta prevalencia de criptococosis^{5,13-15}. Comparativamente, la antigenemia por LA representa mayores costos, por complejidad técnica^{6,12,16}. Con una prevalencia de antigenemia aproximada del 1%, se reportó que el costo para identificar un caso de criptococosis meníngea mediante LA fue superior comparado con LFA más profilaxis (FLU) (datos del 2012 basados en costos totales de laboratorio/prueba LFA: US \$2,50)¹⁶. Asimismo, los costos para prevenir un caso y una muerte por criptococosis fueron mayores con LA que con LFA¹⁶. Diversos estudios han demostrado que LFA es costo-efectiva recomendándola para programas enfocados al cuidado rutinario de pacientes VIH+ con CD4 <100 cel/ μ L (suplemento 2). Por otro lado, sin tamizaje ni profilaxis en pacientes con criptococosis subclínica, deben esperarse altos costos imputables al diagnóstico, hospitalización, tratamiento, complementación terapéutica y días perdidos por incapacidad. El impacto es tal que el tratamiento combinado más estancia hospitalaria por paciente con criptococosis en EE. UU. (2012) durante 14 días podría haber cubierto el tamizaje (LFA) para 5.000 personas asintomáticas asumiendo un costo/prueba de US \$10¹⁶.

Con relación a los resultados, el paciente 1 desatendió las recomendaciones profilácticas lo que probablemente incidió en el progreso de la enfermedad; requirió tratamiento intrahospitalario (con elevados costos) sin respuesta, y falleció. Salvo este caso, la profilaxis más seguimiento clínico y de laboratorio a los demás pacientes con LFA+ fue costo-efectivo. Los pacientes 2, 3, 4, 5, presentaron inicialmente LFA+ con títulos 1:5, 1:20, 1:640 y 1:10, respectivamente, con cifras de CD4 extremadamente bajas (75 cel/ μ L, 53 cel/ μ L, 35 cel/ μ L y 103 cel/ μ L, respectivamente), factores de riesgo que aumentan la probabilidad de enfermar o morir sin diagnóstico y tratamiento oportunos. Comparado con individuos sin antigenemia y con cifras bajas de CD4, el riesgo de morir es 2,5 veces mayor¹⁴. En dos pacientes^{2,3}, la detección temprana más la profilaxis, ayudaron a negativizar la prueba casi un año más tarde; El

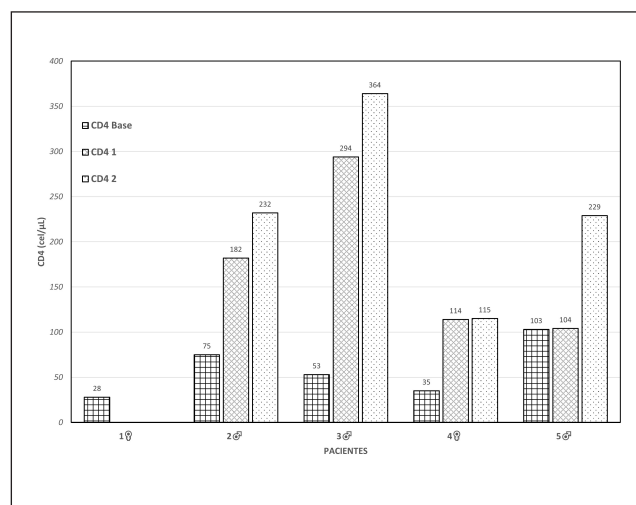


Figura 2. Seguimiento de cifras CD4+ en pacientes VIH/sida con LFA positiva 2016-2019

paciente 4, si bien mostró un descenso importante para la primera antigenemia de control (LFA+ 1:640 a LFA+ 1:20), no tuvo un descenso marcado después, pero vale anotar que era portador de una tuberculosis, comorbilidad que pudiera explicar esto. Los resultados del paciente 5, merecen este análisis: el comportamiento de las cifras de LFA (controles 1 y 2), que pudieran calificarse como caprichosas, (1:20 y luego 1:10 con una basal de 1:10), podrían deberse al retraso (42 días) hasta iniciar la profilaxis; es destacable, que sus últimas cifras de CD4 aumentaron de 103 cel/ μ L a 229 cel/ μ L, posiblemente por adherencia a TAR (tabla 1 y figs. 1 y 2).

Los autores reconocemos que dado el tipo de estudio y la dinámica de los programas del sistema de salud colombiano para la población VIH+, hubo diferencias en el tratamiento, así como en los intervalos de recolección de muestras (pacientes LFA+), pero creemos válidos estos resultados como ejercicio piloto para evaluar la utilidad metodológica de esta prueba en la región. En Colombia, la antigenemia por LFA no está regulada en las guías de manejo para la población VIH/sida; sin embargo, sugiere ser una estrategia adecuada para implementarse en toda Latinoamérica¹⁷. Más allá de las secuelas de la criptococosis meníngea, la LFA surge como prueba tamiz costo-efectiva para superar limitaciones del diagnóstico temprano de esta micosis en la población VIH+. Incluirla en dichas guías, apuntaría a allanar el camino hacia un diagnóstico oportuno, buscando no solo ahorrar costos sino especialmente, salvar vidas.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que ha seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes

Conflictos de interés. Los autores declaran que no existen conflictos de interés de ninguna índole

Apoyo financiero. Universidad Metropolitana, Barranquilla (Acuerdo 067 de abril 19, 2016).

Agradecimientos. A Elizabeth Castañeda Ph. D., por su apoyo durante la elaboración del presente manuscrito; a Mauricio Salcedo Angulo, MD, por la revisión final del mismo.

Bibliografía

- Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, Govender NP, Chiller T, Denning D et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *Lancet Infect Dis*. 2017 Aug;17(8):873–881.
- Lizarazo J, Castro F, de Arco M, Chaves O, Peña Y. Infecciones oportunistas del sistema nervioso central en pacientes con VIH atendidos en el Hospital Universitario Erasmo Meoz de Cúcuta (1995-2005). *Infectio*. 2006;10:226-231.
- Lizarazo J, Castañeda E. Consideraciones sobre la criptococosis en los pacientes con sida. *Infectio*. 2012;16 Suppl 3: 94-9.
- Alvarez-Moreno CA, Cortes JA, Denning DW. Burden of Fungal Infections in Colombia. *J. Fungi*. 2018;4(2):41.
- World Health Organization. Guidelines for the Diagnosis, Prevention and Management of Cryptococcal Disease in HIV-infected Adults, Adolescents and Children. Geneva; 2018 Mar.
- Vidal JE, Boulware D. Lateral Flow Assay for Cryptococcal antigen: an important advance to improve the continuum of HIV care and reduce cryptococcal meningitis-related mortality. *Rev Inst Trop Sao Paulo*. 2015; 57 Suppl 19:38–45.
- Vidal JE, Toniolo C, Paulino A, Colombo A, Dos Anjos Martins M, da Silva Meira C et al. Asymptomatic cryptococcal antigen prevalence detected by lateral flow assay in hospitalized HIV-infected patients in Sao Paulo, Brazil. *Trop Med Int Health*. 2016; 21:1539–44.
- Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. Boletín Epidemiológico Semanal: semana epidemiológica 47 (18-24 de noviembre de 2018). [Internet] [Consultado 2019 08 20]. Disponible en: <http://https://www.ins.gov.co>
- Noguera M, Escandón P, Castañeda E. Cryptococcosis in Atlántico, Colombia: an approximation of the prevalence of this mycosis and the distribution of the etiological agent in the environment. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015 Sept/Oct;48(5):580-6.
- Noguera MC, Escandón P, Arévalo M, García Y, Suárez LE, Castañeda E. Prevalence of cryptococcosis in Atlántico, department of Colombia assessed with an active epidemiological search. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2019;52:e20180194.
- Tang MW, Clemons K, Katzenstein D, Stevens D. The cryptococcal antigen lateral flow assay: A point-of-care diagnostic at an opportune time. *Crit Rev Microbiol*. 2016 Aug;42(4):632–42.
- Rajasingham R, Wake RM, Beyene T, Katende A, Letang E, Boulware DR. Cryptococcal meningitis diagnostics and screening in the era of point-of-care laboratory testing. *J Clin Microbiol*. 2019; 57: e01238-18. doi: [10.1128/JCM.01238-18](https://doi.org/10.1128/JCM.01238-18).
- Wake RM, Britz E, Sriuttan C, Rukasha I, Omar T, Spencer DC et al. High Cryptococcal Antigen Titers in Blood are Predictive of Subclinical Cryptococcal Meningitis Among HIV- Infected Patients. *Clin Infect Dis*. 2018 Feb 10;66(5):686-92.
- Meya DB, Manabe YC, Castelnuovo B, Cook BA, Elbireer AM, Kambugu A et al. Serum Cryptococcal Antigen (CRAG) Screening is a Cost-Effective Method to Prevent Death in HIV-Infected persons with CD4 $\leq$ 100 μ L starting HIV therapy in Resource-Limited Settings. *Clin Infect Dis*. 2010 Aug15;51(4):448-5.
- Ramachandran A, Manabe Y, Rajasingham R, Shah M. Cost-effectiveness of CRAG-LFA screening for cryptococcal meningitis among people living with HIV in Uganda. *BMC Infect Dis* 2017 Mar 23; 17(1):225.
- Rajasingham R and Boulware DR. Reconsidering Cryptococcal Antigen Screening in the U.S. Among Persons With CD4 <100 cells/ μ L. *Clin Infect Dis*. 2012 Dec 15;55(12):1742–4.
- Vidal José E. Preemptive Therapy for Cryptococcal Meningitis: A valid Strategy for Latin America? *J. Fungi*. 2016;2,14; doi:10.3390/jof2020014.