

**REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA  
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE “RAFAEL RANGEL”  
GERENCIA DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN  
COORDINACIÓN DE POSTGRADO  
ESPECIALIZACIÓN EN MICOLOGÍA MÉDICA**

**CONCORDANCIA ENTRE EL EXAMEN DIRECTO EN FRESCO Y TRES  
MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA  
PARACOCCIDIOIDOMICOSIS**

**AUTORA: MARIA TERESA COLELLA  
TUTORA: SOFIA MATA**

**CARACAS, NOVIEMBRE 2012**

**República Bolivariana de Venezuela  
Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”  
Gerencia de Docencia e Investigación  
Coordinación de Postgrado  
Especialización en Micología Médica**

**CONCORDANCIA ENTRE EL EXAMEN DIRECTO EN FRESCO Y TRES  
MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA  
PARACOCCIDIOIDOMICOSIS**

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO COMO  
REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN MICOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: MARIA COLELLA  
TUTORA: SOFIA MATA**

**CARACAS, NOVIEMBRE 2012**

## CONSTANCIA

En mi carácter de Tutor del Trabajo Especial de Grado titulado **“Concordancia entre el examen directo en fresco y tres métodos para el diagnóstico de laboratorio de la paracoccidioidomicosis”**, presentado por la ciudadana María Teresa Colella para optar al Grado de Especialista en Micología Médica, considero que dicho trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser evaluado por parte del jurado examinador que se designe.

En la ciudad de Caracas, a los 10 días del mes de Octubre 2012.

---

Sofía Mata  
C.I: 3.478391

**República Bolivariana de Venezuela  
Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”  
Gerencia de Docencia e Investigación  
Coordinación de Postgrado  
Especialización en Micología Médica**

**CONCORDANCIA ENTRE EL EXAMEN DIRECTO EN FRESCO Y TRES  
MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA  
PARACOCCIDIOIDOMICOSIS**

**Autora: MARIA TERESA COLELLA**

**TRABAJO ESPECIAL DE GRADO PRESENTADO COMO  
REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE  
ESPECIALISTA EN MICOLOGÍA MÉDICA**

**NOVIEMBRE, 2012**

**APROBADO:**

---

Sofía Mata Essayag

---

Ángela Ruíz

---

Vera Reviakina

**ACEPTADO:**

---

Gladys González

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Asesor Estadístico: Dr. Rafael Borges, quien con su amplio conocimiento en estadística, estuvo en todo momento dispuesto a prestar su valiosa orientación para la elaboración del presente trabajo.

A mi tutora: Dra. Sofía Mata quien con su alta experiencia en el área de las Micosis Profundas, estuvo en todo momento con paciencia y cariño enseñándome los diferentes aspectos que fueron expuestos en el presente trabajo.

A mi esposo: por enseñarme la importancia de la fortaleza y la dedicación.

A mis compañeros de trabajo: Dra. María Eugenia Landaeta, Dr Germán Pardi y Dr. Jesús Dawaher; por su orientación en la parte escrita de este trabajo.

A mis compañeras de trabajo: Sra. Desiré Villarroel y Lcda. Vanesa Pineda por su solidaridad.

Al Dr. Dante Borelli: quien a pesar de su inexistencia física, por sus valiosos aportes docentes a las generaciones de relevo que han servido de inspiración para muchos Micólogos.

## **DEDICATORIA**

A mis padres: Regina de Colella y Benito Colella quienes con su sabiduría me han enseñado a lo largo de mi vida.

A mi esposo: Luís Alfonso Colmenares quien siempre ha estado a mi lado, dándome fortaleza.

A mis hijos: Lourdes y Luis A; por su gracia, ingenuidad y belleza.

## INDICE GENERAL

	<b>Páginas</b>
Título, Autor, Tutor.	i
Constancia de aprobación del tutor	ii
Aprobación por jurado	iii
Agradecimiento	iv
Dedicatória	v
Índice General	vi
Índice de Tablas	viii
Resumen	ix
Summary	x
Introducción	1
Marco teórico	3
Objetivos: General y Específico	12
Resultados	16
Discusión de Resultados	29
Conclusiones	37 vi

Recomendaciones	38
Referencias Bibliográficas	39

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Interpretación cualitativa del índice Kappa según Landis y Koch.	15
Tabla 2	Distribución por edad y género de los pacientes evaluados en la Sección de Micología Médica del IMT-UCV.2000-2010	19
Tabla 3	Distribución de la procedencia de los pacientes evaluados en la Sección de Micología Médica del IMT-UCV.2000-2010	20
Tabla 4	Distribución de los pacientes evaluados en la sección de Micología Médica del IMT-UCV, según ocupación.2000-2010	21
Tabla 5	Métodos realizados para el diagnóstico de la Paracoccidioidomicosis.2000-2010	22
Tabla 6	Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre el examen directo y el cultivo.2000-2010	23
Tabla 7	Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre el examen directo y la serología.2000-	24viii

2010

Tabla 8	Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre el examen directo y la histopatología.	25
Tabla 9	Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre la serología y el cultivo.2000-2010	26
Tabla 10	Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre la serología y la histopatología.2000-2010	27
Tabla 11	Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre el cultivo y la histopatología.2000-2010	28

**República Bolivariana de Venezuela  
Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”  
Gerencia de Docencia e Investigación  
Coordinación de Postgrado  
Especialización en Micología Médica**

**CONCORDANCIA ENTRE EL EXAMEN DIRECTO EN FRESCO Y TRES  
MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA  
PARACOCCIDIOIDOMICOSIS**

**Autora: María Teresa Colella. 2012**

**RESUMEN**

La paracoccidioidomicosis (PCM) es una enfermedad crónica, sistémica, granulomatosa, restringida a la América Latina. En nuestro país, es una de las micosis endémicas más importantes. Es producida por un hongo dimorfo denominado *Paracoccidioides brasiliensis*. En el presente trabajo se realizó un estudio retrospectivo de los pacientes con PCM, proveniente de la consulta externa de la Sección de Micología Médica “Dr. Dante Borelli” del Instituto de Medicina Tropical de la Universidad Central de Venezuela, en el lapso comprendido entre 2000-2010 con la finalidad de evaluar la consistencia diagnóstica del examen directo en fresco, el cultivo, la serología, y la histopatología. Se encontró que no hubo correlación entre los métodos o que esta fue muy baja; en tal sentido se recomienda que para el diagnóstico adecuado de la PCM es necesario utilizar los métodos en conjunto y que un resultado negativo de cualquiera de los métodos, no descarta la enfermedad, mientras que un resultado positivo lleva al diagnóstico de la misma.

**Palabras claves:** paracoccidioidomicosis, diagnóstico, correlación.

**República Bolivariana de Venezuela  
Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”  
Gerencia de Docencia e Investigación  
Coordinación de Postgrado  
Especialización en Micología Médica**

**CONCORDANCIA BETWEEN THE DIRECT EXAMINATION IN FRESCO  
AND THREE MÉTODOS OF LABORATORY FOR THE DIAGNOSTIC OF  
THE PARACOCCIDIOIDOMYCOSIS**

**Author: Maria Colella. 2012**

**SUMMARY**

Paracoccidioidomycosis (PCM) is a chronic, systemic, granulomatous disease, restricted to Latin America. In our country, it is one of the most important endemic mycosis. It is produced by a dimorphic fungus named *Paracoccidioides brasiliensis*. In the present study, a retrospective of PCM patients was carried out, at the Section of Micología Médica “Dr. Dante Borelli”, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela, between 2000-2010, with the purpose of evaluating the consistency of direct examination, related to other methods: culture, serology, and histopathology. We found that there was no correlation between the methods or that this was very low; in this regard it is recommended that for the proper diagnosis of PCM the use of all methods is required and that a negative test result does not rule out the disease, while a positive result by any of them leads to the diagnosis, taking into account the potential of each of the methods.

**Key words:** Paracoccidioidomycosis, diagnosis, correlation.



## INTRODUCCION

La paracoccidioidomicosis (PCM) es una enfermedad crónica, sistémica, granulomatosa, limitada a nuestro continente, endémica en nuestro país, producida por un hongo dimorfo (ya que se presenta en forma de levadura en los tejidos infectados a 37°C y en forma de mohos en medios de cultivo a temperatura ambiente) denominado *Paracoccidioides brasiliensis*. Hasta hace pocos años era una entidad propia de personas que se dedicaban a la agricultura u otros trabajos del campo, sin embargo con las migraciones poblacionales a la ciudad, la tala forestal aledaña a las zonas urbanas y otros cambios ecológicos y climáticos, se está observando con mayor frecuencia en estas zonas [1,2].

Afecta principalmente los pulmones, la mucosa orofaríngea y el sistema macrofágico fijo. Es la micosis profunda más común en Latinoamérica, registrándose el 80% de los casos en Brasil, seguido por Venezuela y Colombia. La Reservárea del hongo está delimitada por características ecológicas particulares, sin embargo, el nicho en donde habita el hongo no se conoce [1-4].

Se presenta con mayor frecuencia en hombres, en una proporción variable aproximada de hombre: mujer 10:1 [4]. Además se observa principalmente en la edad adulta y en pacientes que habitan en el medio rural, en contacto directo con la tierra [1-5].

Las manifestaciones clínicas de esta entidad son variables, dependiendo de los órganos afectados: fiebre, tos, disnea, adenopatías, pérdida de peso, disfonía, úlceras en mucosa orofaríngea [1-5]. El diagnóstico se basa en el hallazgo del hongo en los tejidos ya sea por examen directo, cultivo o estudios histopatológicos o por el hallazgo de anticuerpos contra el hongo mediante el uso de técnicas serológicas [5,6].

La droga de elección para el tratamiento de la PCM es el itraconazol.

Aunque se pueden utilizar otras alternativas como la anfotericina B y las sulfonamidas con altas tasas de éxito. En cualquiera de los casos, el tratamiento se da por tiempo prolongado [2,7].

La paracoccidioidomicosis es una enfermedad restringida a la América Latina continental y en nuestro país, es una de las micosis endémicas más importantes. Por otra parte, esta entidad no es de denuncia obligatoria, razón por la cual no disponemos de una casuística confiable y actualizada.

Existen pocos reportes en la literatura en donde se evalúe la importancia de cada uno de los métodos que se utilizan para realizar el diagnóstico micológico (examen directo, cultivo, serología e histopatología), tomando en consideración que aunque el método patrón de oro para efectuar el diagnóstico de la PCM es el cultivo, el mismo presenta la dificultad de que no siempre se obtiene un resultado positivo. Las posibles razones de esto son: porque la viabilidad del hongo esté alterada, los medios de cultivo empleados no sean los adecuados, la calidad de la muestra que sea tomada y por último, la genomovariedad del hongo. Por lo tanto nos planteamos la posibilidad de efectuar un estudio para determinar la concordancia que pudiese existir entre las diferentes técnicas que se realizan en el diagnóstico de esta enfermedad.

Se consideró realizar un estudio retrospectivo de los pacientes con PCM, proveniente de la consulta externa de la Sección de Micología Médica “Dr. Dante Borelli” del Instituto de Medicina Tropical de la Universidad Central de Venezuela, en el lapso comprendido entre 2000-2010.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la concordancia entre los métodos diagnósticos en la PCM: examen directo, histopatología, serología y cultivo.

## MARCO TEORICO

### Historia

*Paracoccidioides brasiliensis*, fue descrito por primera vez por el brasileño Adolfo Lutz en 1908, quien, junto con Splendore, realizó un registro de las características clínicas relevantes de la enfermedad. En 1921 Pablo Negroni, estudió el hongo y demostró su dimorfismo. Almeida en 1927, logró determinar que es una enfermedad diferente a la coccidioidomicosis. Almeida y Lacaz en 1928 designaron el nombre del hongo *Paracoccidioides brasiliensis* pero no fue sino hasta 1971 cuando se le dio el nombre de paracoccidioidomicosis. Se reportaron varios casos en América Latina: Argentina (Llambias y col. en 1930), Venezuela (primer caso descrito por O'Daly en 1937), México (González-Ochoa en 1950) y Colombia (Méndez en 1950) [2].

### Epidemiología

La enfermedad se presenta en América Latina, donde es endémica desde México hasta Buenos Aires , en áreas con temperatura media anual entre 17 y 24°C, con pluviometría entre 400 y 800mm de lluvia anual y sin largos veranos ecológicos, bosques húmedos y en zonas de sembradíos de café, tabaco, algodón y caña de azúcar [8]. Habitualmente no existe PCM en otras partes del mundo; sin embargo, se han descrito casos en Europa y otros países, en personas inmigrantes, quienes después de haber vivido en la Reservárea del hongo han migrado a dichos países. Se han registrado, en los últimos años, cambios notorios en la frecuencia, las características demográficas de la población afectada y la distribución geográfica; es posible que tales cambios se deban a la urbanización, deforestación, cambios en las áreas agrícolas y mejoría en el diagnóstico [2].

La frecuencia real de la PCM se desconoce debido a la ocurrencia de casos subclínicos. En los diagnosticados, un 80% de los pacientes son provenientes de Brasil (São Paulo, Río de Janeiro, Mato Grosso y Minas Gerais); seguidos por Venezuela y Colombia [4,9].

En nuestro país, las áreas de mayor prevalencia de la enfermedad las encontramos en los estados atravesados por cadenas montañosas, como la cordillera de los Andes, de la Costa, Macizo Guayanés y la serranía de San Casimiro en el estado Falcón. Los estados donde se presentan con mayor frecuencia los casos son Aragua, Miranda, Carabobo, Distrito Federal, Monagas, Bolívar, Táchira, Lara, Trujillo, Falcón y Portuguesa. Esta amplia distribución de la micosis a nivel nacional es clara evidencia de su endemidad [2].

Se sospecha que *Paracoccidioides brasiliensis* vive en el ambiente natural, sin que hasta ahora se haya podido confirmar su hábitat extrahumano; sin embargo, parece poco probable que el hongo pueda subsistir en el ambiente, sin ayuda de un protector. La enfermedad es más frecuente en hombres entre los 30 y 50 años de edad, que trabajan o han trabajado en el medio rural, aunque según diferentes autores, también puede presentarse en mujeres, en una relación variable: Arenas (México) 28:1, Restrepo (Colombia) 70:1, o Albornoz (Venezuela) 13:1. En todo caso, es mucho menos frecuente en mujeres [2,4,9,].

Se consideran factores predisponentes la depresión del sistema inmunitario, la desnutrición y procesos hormonales. Suele asociarse con alcoholismo y tabaquismo [4].

La PCM no se transmite de un ser humano a otro. Se desconoce la enfermedad en animales, aunque se ha aislado, entre otros, en el armadillo de nueve bandas (*Dasypus novemcinctus*), con distribución geográfica similar a la de la paracoccidioidomicosis en humanos [10].

#### Etiopatogenia

El agente causal es el hongo dimorfo *Paracoccidioides brasiliensis*, perteneciente al *Phylum: Ascomycota*, Orden: *Onygenales* y Familia: *Onygenaceae*. Mediante el polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) se han demostrado, por lo menos, cinco variantes provenientes de diferentes áreas geográficas de Suramérica [11,12].

En la mayoría de los hospederos sanos se origina una infección pulmonar primaria subclínica que se cura espontáneamente o puede pasar a un estado latente, cuya duración depende de la respuesta inmunitaria del hospedero y la virulencia del hongo. Inicialmente hay alveolitis e infiltrados de macrófagos que pueden diseminar el microorganismo a todo el sistema macrofágico fijo. Se localiza predominantemente en los pulmones, los ganglios linfáticos y las glándulas suprarrenales [4].

#### Inmunopatogenia

El antígeno Pb-1 de *P. brasiliensis*, un ácido glucoesfingolípido con un residuo terminal Galf, induce la respuesta inmunitaria primaria con producción inicial de IgM y posteriormente de IgG1, cuyos títulos disminuyen después de cinco meses de iniciar el tratamiento.

Predomina la respuesta tipo Th1 con la síntesis de citocinas que activan macrófagos y linfocitos T CD4+ y CD8+, además de la formación de granulomas compactos que controlan la replicación del hongo. En las formas latentes el microorganismo puede persistir dentro del granuloma [4,13-16].

Si la infección evoluciona a enfermedad, hay un viraje a respuesta Th2, con elevada actividad de linfocitos B, produciéndose una hipergammaglobulinemia dependiente de IgE anti gp43, la disminución de linfocitos CD4+, elevación en la síntesis de IL-4 e IL-5, disminución de IL-12 relacionada con síntesis defectuosa de INF- $\gamma$ , disminución de IL-2 y TNF- $\alpha$ , concentraciones eritrocitarias bajas de CR1 que afectan negativamente algunas fracciones del complemento (se relaciona con activación inapropiada de los leucocitos circulantes y eleva la concentración de complejos inmunitarios), elevada expresión de citocinas anti-inflamatorias (IL-10 y TGF-beta) en los ganglios linfáticos (sobre todo en las formas juveniles), elevación de IL-18, del receptor 1 del TNF soluble y de la molécula de adhesión intercelular soluble; la acidificación fagosómica de los monocitos se afecta gravemente en pacientes sin

tratamiento, pero se recupera después de administrar el mismo. En los casos con lesiones orales disminuye la expresión de la enzima sintetasa de óxido nítrico en las células gigantes multinucleadas y mononucleares. [4,13-16].

En la piel se produce el INF- $\gamma$  en diferentes células de granulomas bien organizados, y en los mal organizados se expresan la IL-5 e IL-10. Las células de Langerhans tienen dendritas irregulares y cortas en todos los tipos de granulomas, y en los granulomas organizados y mal organizados se encuentran en menores cantidades.

También se observa eosinofilia marcada en las formas juveniles y en las diseminadas de los adultos [4,13-16].

#### Clasificación clínica

Según el Coloquio Internacional en Paracoccidioidomicosis; Medellín, Colombia 1986 y vigente hasta nuestros días [17], la enfermedad se clasifica de la siguiente manera:

1) Infección: Personas con reacción intradérmica positiva, quienes aparentemente estuvieron en contacto con el hongo pero no padecieron los síntomas

#### 2) Enfermedad

**a. Forma aguda o sub-aguda (tipo juvenil):** Habitualmente grave, con depresión de la respuesta inmune celular. Existen dos tipos: **Grave:** en la cual se evidencia un deterioro del estado general, con afectación del sistema macrófago fijo. Si no se toman las medidas adecuadas el paciente puede fallecer. **Moderada:** en esta forma sólo se afecta un sistema. En ambos tipos existe la presencia de anticuerpos circulantes y es posible realizar el diagnóstico a través de las pruebas inmunológicas.

**b. Forma crónica (tipo adulto):** Se puede presentar en dos formas. **Unifocal:** en la cual está afectado un solo órgano o sistema,

frecuentemente el pulmón, la inmunidad celular se encuentra conservada y hay presencia de anticuerpos. **Multifocal:** la enfermedad se extiende a varios órganos o sistemas, tales como: piel, mucosas, pulmones, etc. La respuesta inmunológica varía de acuerdo al estado general del paciente y de acuerdo a la extensión de las lesiones.

**c. Formas residuales o secuelas:** se manifiestan por signos y síntomas relacionados con las secuelas de la enfermedad.

#### Manifestaciones clínicas

La mayoría de los pacientes adquieren la infección a la edad de 10 a 20 años y entre los 30 y 50 años aparecen las manifestaciones clínicas, por reactivación de algún foco latente. El periodo de incubación varía desde semanas hasta 60 años [4].

En los casos de PCM aguda o subaguda, se observa deterioro rápido del estado general y puede conducir a la muerte, sin embargo también puede evolucionar hacia la forma crónica. Las formas generalizadas y tegumentarias primitivas son excepcionales. En los niños predomina la forma diseminada; la localización en mucosas y pulmones es rara. [4].

La afectación pulmonar ocurre con una frecuencia que varía entre 51 a 100% de los pacientes, con infiltrados moteados bilaterales y adenopatías parahiliares. En la forma progresiva suelen afectarse los lóbulos inferiores y en las etapas tardías se produce fibrosis intersticial. Los síntomas son inespecíficos, con tos productiva, disnea, hemoptisis, fiebre, pérdida de peso y astenia.

La mucosa bucofaríngea se afecta en 51 a 82% de los casos y puede aparecer sin manifestaciones pulmonares, con aumento de volumen, deformación, nódulos y úlceras que se agrupan para formar placas con tejido de granulación, lo que constituye la llamada estomatitis moriforme. Se observan lesiones gingivales en 52 a 76%, linguales en 71% y labiales en 62% de los casos. Los dientes se aflojan y algunos se

pierden; la masticación y deglución son dolorosas, lo que resulta en deterioro mayor por desnutrición, caquexia y muerte. Puede haber limitación en la apertura de la boca por la fibrosis. Las lesiones centofaciales producen aumento de volumen, lo que se denomina “boca de tapir”. Por extensión pueden afectarse la faringe y la laringe; en los casos avanzados hay destrucción del velo del paladar y la epiglotis con disfonía.

La piel peribucal y perinasal suelen afectarse; se observan lesiones nodulares y ulceradas, vegetantes o verrugosas, de evolución lenta y asintomática. Es rara la afección de los ojos. Se han reportado casos de paroniquia con pérdida de las uñas [17-19].

Cuando hay afección ganglionar ocurre aumento de volumen, induración, dolor o fluctuación y formación de fístulas en las regiones cervical, axilar, inguinal y supraclavicular.

También puede afectarse el esófago, el estómago, el páncreas, los huesos y las articulaciones; cuando se afectan las glándulas suprarrenales, los pacientes manifiestan el síndrome de Addison, con astenia, adinamia, hipotensión y cambios pigmentarios; en los huesos puede haber mielopatía infiltrativa con formación de granulomas y osteomielitis [4].

Las principales manifestaciones en niños son: hepato-esplenomegalia, linfadenopatías abdominales, lesiones cutáneas y fiebre, anemia, eosinofilia e hipoalbuminemia. En un 35,7% ocurre desnutrición moderada a grave. La afección de los huesos es frecuente, en donde se pueden evidenciar lesiones líticas [4,20].

En los pacientes con SIDA y PCM, la infección por *P. brasiliensis* es la primera manifestación en el 60% de los casos; suelen cursar con fiebre prolongada, pérdida de peso, linfadenopatía generalizada, hepato-esplenomegalia y manifestaciones cutáneas; la serología es negativa. Debido a la mayor gravedad del padecimiento, se manifiesta clínicamente como una enfermedad oportunista. Los pacientes quedan protegidos si

reciben profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol para *Pneumocystis jirovecii*.

Entre el 10% y el 30% de los casos la micosis se asocia con tuberculosis, cáncer y enfermedad pulmonar obstructiva crónica [4].

#### Diagnóstico de la paracoccidioidomicosis

El diagnóstico de la PCM, como en el caso de otras micosis, se puede efectuar por dos tipos de métodos: a) procedimientos microbiológicos o directos, mediante los cuales se observa o aísla el microorganismo; b) técnicas serológicas o indirectas, para detectar anticuerpos específicos (anti-*P. brasiliensis*) en el hospedero o moléculas provenientes de microorganismo (antígeno). Lo ideal es el uso combinado de ambos tipos de métodos para incrementar la sensibilidad diagnóstica [21-23].

#### Toma de muestra

Para un adecuado diagnóstico en esta entidad es esencial elegir la muestra más apropiada, de acuerdo con la forma clínica y la sintomatología del paciente. Si el mismo presenta síntomas pulmonares la muestra ideal es el esputo, si el paciente no expectora debe realizarse un lavado broncoalveolar.

En el caso de PCM diseminada a otros órganos debe obtenerse la muestra, si es posible, de lugares accesibles como piel, mucosas y ganglios. Si las lesiones no son accesibles se recurre a las biopsias de órganos.

Según el sistema afectado, deben obtenerse otras muestras (LCR, líquido ascítico, líquido pleural, entre otras.).

**Examen Directo:** Se puede practicar mediante el examen en fresco con hidróxido de potasio (KOH al 10%) más tinta Parker, lugol o negro de clorazol. Los hallazgos microscópicos evidencian la presencia de levaduras esféricas u ovals de doble pared, anisométricas de 10 a 60  $\mu$  de diámetro, con gemación múltiple y pueden formar una imagen en

“rueda de timón”. También se utilizan coloraciones especiales como Giemsa o Wright. La presencia de levaduras con las características antes mencionadas en muestras clínicas representativas, se considera diagnóstico de la enfermedad [21-26].

**Cultivo:** es la prueba denominada estándar de oro, se efectúa mediante la utilización de los medios de cultivo usuales; Sabouraud, Lactritmel, Mycosel, y Sablac [4]. A temperatura ambiente se observa la forma de moho, el cual toma un aspecto algodonoso de color blanquecino-crema, plegado, que con el tiempo toma un color pardo claro o beige, con reverso color marrón claro. Al microscopio se observan hifas tabicadas, delgadas e hialinas, clamidoconidias intercalares y terminales. De manera esporádica se ve la presencia de aleurioconidias piriformes de pared lisa [26]. Es de crecimiento lento (4 a 6 semanas). En medios enriquecidos como el agar cerebro-corazón con 5% de sangre a temperatura de 37°C se puede obtener la fase de levadura, macroscópicamente se aprecia el crecimiento de colonias de color crema con superficie rugosa, y microscópicamente se observan las formas de levadura multigemantes que identifican al hongo [1-6].

**Serología:** La utilización de las pruebas serológicas juega un papel importante en el diagnóstico y pronóstico de la PCM. El método más usado es la inmunodifusión doble (IDD) (cualitativa y cuantitativa), .Esta técnica se basa en colocar antígenos y anticuerpos en un medio semisólido (agarosa) [6]. El resultado se interpreta por medio de la aparición de bandas, las cuales son producidas por la precipitación de las inmunoglobulinas presentes en la muestra de paciente (anticuerpos) con el antígeno [6,14]. Se realiza con antígeno de la fase de levadura obteniéndose una sensibilidad del 90% y especificidad del 100%, el antígeno gp43 es el más importante y se ha convertido en el antígeno de referencia en la PCM, sin embargo, el gp43 puede desaparecer de la circulación durante el tratamiento o puede producir falsos negativos [6, 32]. Esta técnica tiene la ventaja de que se puede realizar con diversos

tipos de muestras clínicas como son suero, líquido ascítico, y líquido pleural, entre otros. El número de bandas que produce es directamente proporcional a la gravedad de la micosis. Estas bandas desaparecen cuando hay curación, por esta razón la prueba es empleada también para el seguimiento del tratamiento. Otras pruebas utilizadas son la fijación de complemento, inmunoelectroforesis, inmunoensayo enzimático (ELISA) e inmunoelectrotransferencia (Western Blot) [6,26,32].

**Histopatología:** se efectúa a partir de cualquier tejido. Las coloraciones más utilizadas son hematoxilina y eosina y Gomori-Grocott, siendo esta última la más recomendada ya que es específica para hongos. Con estas coloraciones se puede evidenciar la presencia de las levaduras multibrotantes características en el tejido, Se pueden encontrar extracelulares o intracelulares en macrófagos o células gigantes. Por lo tanto es suficiente para hacer el diagnóstico de la enfermedad. Tiene una sensibilidad de 62-95% [3, 4,33].

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar la consistencia diagnóstica del examen directo en fresco, respecto al cultivo, la serología, y la histopatología.

### Objetivos específicos

1) Determinar el grado de concordancia entre el examen directo en fresco y el cultivo, para el diagnóstico de laboratorio de paracoccidioidomicosis

2) Determinar el grado de concordancia entre el examen directo en fresco y la inmunodifusión doble en agar, para el diagnóstico de laboratorio de paracoccidioidomicosis.

3) Determinar el grado de concordancia entre el examen directo en fresco, y la coloración de Gomori-Grocott, para el diagnóstico de laboratorio de paracoccidioidomicosis

## **METODOLOGIA**

### **Tipo de Estudio**

El presente estudio se basó en un registro de historias clínicas. Es de tipo operacional, cuantitativo, comparativo y retrospectivo.

### **Población y muestra**

Se tomaron en cuenta las historias clínicas de los pacientes con diagnóstico de paracoccidioidomicosis, evaluados en la consulta externa de la Sección de Micología Médica “Dr. Dante Borelli” del Instituto de Medicina Tropical de la Universidad Central de Venezuela y de pacientes procedentes de algunos hospitales del área de la Gran Caracas, cuyas muestras clínicas fueron procesadas en dicha Sección en el lapso de tiempo comprendido entre 2000 -2010.

### **Análisis estadístico**

La información fue recopilada en un instrumento de recolección de datos. Se transcribieron en una hoja de cálculo Excel del programa Microsoft Windows del sistema operativo Windows Vista (2007), para el cálculo de las frecuencias simples y para el análisis de la concordancia.

Para determinar la concordancia entre los métodos diagnósticos en estudio se aplicó una de las pruebas de la estadística inferencial que es el análisis de concordancia de atributos para datos binarios [27-31]. En un primer paso, se calculó la proporción de coincidencias entre el examen directo en fresco y el “otro” método diagnóstico de manera individual, es decir, con el cultivo, la inmunodifusión doble en agar y la histopatología.

Luego se calculó el índice de concordancia kappa [27], en el cual un valor igual a 1 significa concordancia perfecta mientras que si el valor es 0 hay un desacuerdo total. De esta forma se estableció hasta qué punto la concordancia observada es superior a la esperada por puro azar. Se emplearon los márgenes de Landis y Koch [28] y de esta manera, se

determinó el grado de concordancia entre los métodos diagnósticos (Ver tabla1); también se utilizó el test de Mc Nemar.

Para el análisis de los datos se utilizó el programa Epi Info 2008 versión 3.5.1.

**Criterios de inclusión:**

Se tomaron en cuenta las historias en las cuales, el resultado fue positivo para PCM por el examen directo, histopatológico, cultivo o serología.

**Criterios de exclusión:**

Historias en donde no fue posible realizar el diagnóstico de PCM por ninguno de los métodos antes mencionados

**Tabla 1. Interpretación cualitativa del índice Kappa según Landis y Koch.**

<b>Índice Kappa</b>	<b>Grado de acuerdo</b>
< 0	Sin acuerdo
0 - 0,2	insignificante
0,2 - 0,4	bajo
0,4 – 0,6	moderado
0,6 - 0,8	bueno
0,8 -1	Muy bueno

## RESULTADOS

Se evaluaron 251 historias clínicas con el diagnóstico de PCM, procedentes de la Sección de Micología Médica “Dr. Dante Borelli”.

Se encontró, con relación al género, que el dato en los registros estuvo presente en 227 pacientes, en quienes se observó un predominio del género masculino 187 casos (82,4%) en relación a los del femenino, que fueron 40 (17,6%); siendo la relación M:F de 5:1( Ver tabla 2)

Con respecto a la edad, la menor edad registrada fue de 2 años y la mayor fue de 81. La enfermedad fue más frecuente, en los pacientes del sexo masculino (51 casos, 28,1%), en las edades comprendidas entre 40 y 50 años. En las mujeres, se observó un mayor número de casos a partir de los 46 años de edad, representados por 25 (62,5%) (Ver tabla 2).

En relación a la PCM infanto-juvenil (2-18 años), esta se presentó en 30 (1,4%) casos, fue más frecuente en el sexo masculino (23 casos) en relación con el sexo femenino que fueron 7, encontrándose una relación M: F 7:3 (Ver tabla 2).

Con respecto a la entidad federal de procedencia, 82 (42,7%) pacientes provinieron del área metropolitana de Caracas y 69 (35.9%) del estado Miranda., 13 (6.7%) habitaban en el estado Vargas, 5 (2.6%) en Aragua y 6 (3,1%) en Monagas (Ver tabla 3).

En relación con la ocupación de los pacientes, el dato estuvo disponible en 176 casos, en donde se evidenció una gran variedad de ocupaciones. Sin embargo, predominaron los trabajadores de la agricultura en 48 (27,3%) casos, seguidos de 28 (15,9%) obreros de la construcción (Ver tabla 4).

Referente a los métodos diagnósticos de laboratorio utilizados en las historias revisadas en este estudio, se evidenció que se practicó examen directo a 97 muestras clínicas tomadas de los pacientes, de las cuales, en 80 (82,5%), se demostró la presencia de levaduras

multibrotantes anisométricas, de doble pared refringente, de 10 a 60 micras de diámetro y con vacuolas lipídicas, compatibles con *Paracoccidioides brasiliensis*. En 17 de las muestras (17,5%) no se observó la presencia de dichas estructuras. (Ver tabla 5).

En relación al cultivo, este se efectuó en 64 muestras, en las cuales se evidenció que en 40 (62,5%) se observó el crecimiento de colonias de micelio aéreo corto y de color blanco, que al ser incubadas a 37°C se transformaron en colonias cerebriformes de color beige que microscópicamente revelaron la presencia de las células características con gemación múltiple. En los restantes 24 (37,5%) no hubo crecimiento (Ver tabla 5).

Con respecto al estudio serológico, el mismo se practicó a 201 pacientes en las historias evaluadas y se detectó en 182 (90,5%) la presencia de bandas de precipitación específicas para *P. brasiliensis*, mientras que en 19 (9,5%) no hubo reacción (Ver tabla 4).

En cuanto a la histopatología mediante coloración de Grocott, la misma se practicó en 80 muestras, en donde se evidenció la presencia de *P. brasiliensis*. En ninguna de las muestras evaluadas el resultado fue negativo (Ver tabla 5).

Al realizar el análisis estadístico de la concordancia para determinar el grado de acuerdo entre el examen directo en fresco, la serología, el cultivo y la histopatología, mediante el uso de las tablas de contingencia bidimensionales, se encontró que: entre el examen directo y el cultivo, el porcentaje de concordancia fue de 49,12 % con unos límites de confianza de 35,63 % y 62,71 %. No se pudo calcular el índice Kappa debido a que el tamaño de la muestra fue pequeño. Sin embargo, se calculó el test de Mc Nemar el cual dio 4,17. Esto nos permitió concluir que entre estos dos métodos no hay acuerdo (Ver tabla 6a)

Por otra parte, al comparar entre el cultivo y la serología, el porcentaje fue de 59,09 % con unos límites de confianza de 43,24 % y

73,66 %. Se calculó el índice Kappa dando un valor de 0,11. Es decir que según la Interpretación cualitativa de Landis y Koch (Ver tabla 1) para la interpretación del índice Kappa, éste fue insignificante. Sin embargo, cuando se calculó el test de Mc Nemar éste dió un resultado de 2, lo que indica que hay equivalencia (Ver tabla 7a).

En cuanto a la serología y al examen directo, se encontró un porcentaje de concordancia de 73,91 con unos límites de confianza de 61,94 y 83,75. Cuando se calculó el índice de Kappa éste fué de 0,20 es decir insignificante (tabla 5b). El índice de Mc Nemar dió 0,88 es decir, que hay equivalencia (Ver tabla 6b).

Con respecto al diagnóstico efectuado mediante histopatología, no se pudo calcular correlación alguna ya que no hubo datos negativos, en vista de que todas las muestras procesadas fueron positivas (Ver Tabla 6c, 7b y 7c).

**Tabla 2. Distribución por edad y género de los pacientes evaluados en la sección de Micología Médica del IMT – UCV.2000-2010.**

<b>Género</b>	<b>Masculino</b>		<b>Femenino</b>		<b>Total</b>	
<b>Edad (años)</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>	<b>Número</b>	<b>%</b>
1 a 18	23	12,7	7	17,5	30	1,4
19 – 30	17	9,4	5	12,5	22	9,9
31 – 45	60	33,2	4	10	64	29,0
46 – 60	55	30,4	21	52,5	76	34,4
Más de 60	26	14,4	3	7,5	29	13,1
<b>Total</b>	<b>181</b>	<b>81,9</b>	<b>40</b>	<b>18,1</b>	<b>221</b>	<b>100</b>

**Tabla 3. Distribución de la procedencia de los pacientes evaluados en la Sección de Micología Médica del IMT – UCV.2000-2010.**

<b>Entidad Federal</b>	<b>Número</b>	<b>Porcentaje %</b>
Área Metropolitana de Caracas	82	42,7
Miranda	69	35,9
Vargas	13	6.7
Aragua	5	2.6
Monagas	6	3.1
Guárico	2	1.0
Portuguesa	5	2.6
Trujillo	3	1.7
Bolívar	2	1.0
Carabobo	2	1.0
Delta Amacuro	1	0.5
Táchira	1	0.5
Anzoátegui	2	1.0
<b>Total</b>	<b>192</b>	<b>100 %</b>

**Tabla 4. Distribución de los pacientes evaluados en la sección de Micología Médica del IMT-UCV, según la ocupación.**

Ocupación	Número	Porcentaje
Agricultura	48	27,3
Empleados de la construcción(albañil, Carpintero, ingeniero, pintor) topógrafo)	28	15,9
Estudiante	21	11,9
Conductores de vehículo(chofer, taxista)	12	6,8
Comercio informal	15	8,5
Profesionales de la salud(médicos, enfermeras, odontólogos)	5	2,8
Oficinista /secretaria	8	4,5
Vigilante	1	0,6
Otros	38	21,6
<b>Total</b>	<b>176</b>	<b>100 %</b>

**Tabla 5. Métodos realizados para el diagnóstico de la Paracoccidioidomicosis.2000-2010.**

<b>Método</b>	<b>positivo</b>	<b>%</b>	<b>negativo</b>	<b>%</b>	<b>total</b>
Examen directo	80	82,5	17	17,5	97
histopatología	80	100	0	0	80
Serología	182	90,5	19	9,5	201
Cultivo	40	62,5	24	37,5	64
<b>Total</b>	<b>382</b>	<b>86,4</b>	<b>60</b>	<b>13,6</b>	<b>442</b>

**Tabla 6. Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre el examen directo en fresco y el cultivo.2000-2010**

		<b>Examen directo</b>		
		<b>Negativo</b>	<b>positivo</b>	<b>total</b>
<b>Cultivo</b>	<b>Negativo</b>	3	20	23
	<b>positivo</b>	9	25	34
	<b>Total</b>	12	45	57

**Tabla 7. Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre el examen directo en fresco y la serología.2000-2010**

		<b>Examen directo</b>		
		<b>Negativo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Total</b>
<b>Serología</b>	<b>Negativo</b>	5	7	12
	<b>Positivo</b>	11	46	57
	<b>Total</b>	16	53	69

**Tabla 8. Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre el examen directo en fresco y la histopatología.2000-2010.**

		<b>Examen directo</b>		
		<b>Negativo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Total</b>
<b>Histopatología</b>	<b>Negativo</b>	0	0	0
	<b>Positivo</b>	6	30	36
	<b>Total</b>	6	30	36

**Tabla 9. Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre la serología y el cultivo.2000-2010.**

		<b>Serología</b>		
		<b>Negativo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Total</b>
<b>Cultivo</b>	<b>Negativo</b>	6	12	18
	<b>Positivo</b>	6	20	26
	Total	2	32	44

**Tabla 10. Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre la serología y la histopatología.2000-2010.**

		<b>Serología</b>		
		<b>Negativo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Total</b>
<b>Histopatología</b>	<b>Negativo</b>	0	0	0
	<b>positivo</b>	8	44	52
	Total	8	44	52

**Tabla 11. Tabla de contingencia bidimensional para el estudio de la concordancia entre el cultivo y la histopatología.2000-2010.**

		<b>Cultivo</b>		
		<b>Negativo</b>	<b>Positivo</b>	<b>Total</b>
<b>Histopatología</b>	<b>Negativo</b>	0	0	0
	<b>Positivo</b>	10	13	23
	<b>Total</b>	10	13	23

## DISCUSIÓN

Se evaluaron las historias de 251 pacientes con el diagnóstico de PCM en la Sección de Micología Médica "Dr. Dante Borelli" del Instituto de Medicina Tropical de la UCV, entre los años 2000 y 2010. Debido a que el estudio realizado fue de registros de historias clínicas, no se dispuso de todos los datos demográficos y del examen micológico.

Con respecto a la distribución demográfica de la cohorte, se evidenció una clara tendencia hacia el predominio del género masculino (81,9%) en comparación al femenino (18,1%). En cuanto a la distribución por edad, esta fue influenciada por el género; la mayor frecuencia en hombres fue en las edades medias de la vida, entre 31 y 60 años (63,6%), mientras que en el grupo de las mujeres la mayor incidencia ocurrió a partir de los 46 años (52,5%). En estas etapas de la vida la forma de enfermedad que se observó con mayor frecuencia fue la crónica.

Estos datos se reproducen en la literatura nacional e internacional de forma constante [34-37].

En esta investigación se encontró que el 1,4 % de los pacientes tenían 18 años o menos, quienes presentaron la forma de enfermedad aguda o juvenil. En la literatura revisada, se aprecia que esta entidad es relativamente infrecuente en niños y adolescentes, reportando cifras de aproximadamente 2% de los pacientes con menos de 10 años y 8% con menos de 20 años.

En nuestro trabajo se obtuvo una relación hombre: mujer de 5:1. Estudios previamente realizados a nivel nacional, demostraron que entre el 89% y el 92% de los casos son del sexo masculino, en un promedio de la relación de 18:1. El mayor número de casos se presentó en la década de los 40 y 50 años [34,39-43]. Estos hallazgos se reproducen igualmente en Brasil, Argentina y Colombia [43-45].

Existen evidencias desde el punto de vista hormonal que podrían explicar por qué esta micosis se observa con más frecuencia en los hombres que en las mujeres. Experimentos en modelos animales demuestran que el hongo produce una proteína receptora que se une a los estrógenos de los mamíferos (17- $\beta$ -estradiol), lo cual inhibe la expresión proteica y la transformación de la forma infectante, moho a la forma de diseminación de la enfermedad, levadura; por lo tanto en las hembras el desarrollo del hongo es detenido y la infección es controlada. Por otro lado, en los machos, las levaduras se multiplican activamente, resultando en una infección progresiva. Adicionalmente, se ha reportado que las mujeres exhiben una mayor respuesta inmune celular capaz de detener el progreso de la infección [37,47].

Esto además, revela por qué la relación niño:niña es 1,6:1 lo cual contrasta marcadamente con la relación hombre:mujer 11:1; en las niñas la expresión hormonal no está del todo desarrollada. El hallazgo de una distribución casi igualitaria por género en pacientes prepúberes, evidencia el papel protector de la hormona en esta micosis [20].

Con relación a la procedencia, 42,7% de los casos provenían del área metropolitana de Caracas, 35,9% del estado Miranda y 6,7% de Vargas. Mucho menor fue el número de casos de otros estados más distantes del país (Ver tabla 3). Esto posiblemente debido a que la Sección de Micología Médica recibe la mayoría de pacientes y muestras clínicas del centro del país, por lo que no es posible hacer inferencias con respecto a la distribución geográfica del hongo en este trabajo. Sin embargo, tenemos que hacer notar, que investigaciones anteriores demuestran que las áreas endémicas más importantes en nuestro país, son los estados Aragua, Carabobo, Miranda, Distrito Federal, Monagas, Táchira, Trujillo, Falcón, Bolívar, Portuguesa y Lara [2,34].

Al analizar la ocupación, se encontró el dato disponible en 176 pacientes. Se evidenció que el 27,3 % se dedicaban a labores agrícolas, 15,9% eran empleados diversos de la construcción, 11,9 % estudiantes y

8,5 % del comercio informal. El resto incluye conductores de vehículos y profesiones de las más diversas índoles (Ver tabla 4). Tradicionalmente esta enfermedad se ha asociado al medio rural y sobre todo en donde existen plantaciones de café, tabaco, algodón y caña de azúcar [2]. Sin embargo, en nuestro trabajo sólo el 27,3% de los pacientes refirieron actividades agrícolas, aún cuando no sabemos si los otros pacientes evaluados en algún momento de su vida tuvieron relación con el medio rural. Sin embargo, en el trabajo de Román et al, en el estado Lara, realizado entre los años 1974 y 1985 reportan que un 80% de los pacientes fueron agricultores [48]. Nuestra data se asemeja más a lo reportado por Taronna y col en un estudio realizado entre 1979 y 1989, en casos recolectados en hospitales de las grandes ciudades, en diferentes áreas endémicas del país, donde demuestran que más de la mitad de los casos no tuvo relación alguna con el medio rural [34]. No obstante, en el reporte de Olivero, circunscrito al estado Carabobo entre los años 1992 y 2005 el 88,7% de los pacientes eran agricultores [39]. Estas diferencias pueden ser explicadas en parte por la predominancia de las actividades agrícolas en esta zona del país. Adicionalmente, la migración de la población rural a las zonas urbanas o suburbanas, los cambios de trabajo y el hecho de que la micosis se diagnostica muchos años después del contacto con el hongo lo que origina que en los registros de las historias médicas se encuentren ocupaciones que no tienen relación con esta enfermedad. Actualmente se describe cada vez con mayor frecuencia esta entidad en pacientes que jamás han tenido relación con el medio rural [2].

En el estudio de Olivero y col en el año 2007, el tipo de empleo más frecuentemente descrito en los casos no asociados a la agricultura fue el de los trabajadores de la construcción [39], y en la publicación de Cermeño et al en el 2008 en un estudio de prevalencia en el estado Bolívar, también se presentan como factores de riesgo las actividades asociadas a esta actividad [48]. La falta de conocimiento acerca del hábitat del hongo, nos impide dar una explicación razonable a nuestros

resultados. Sin embargo, queremos llamar la atención acerca del deslave ocurrido en el estado Vargas en el año 1999, el cual produjo cambios en la ecología con consecuencias imposibles de medir, modificando muy probablemente la distribución y la exposición de la población a éste y a los demás hongos endémicos en nuestro país.

Debido a que no fue el objetivo de nuestro trabajo, describir las manifestaciones clínicas, datos paraclínicos, enfermedades concomitantes y tratamiento. Esto será objeto de estudios posteriores.

En relación a los métodos diagnósticos utilizados, en este trabajo se evidenció que el examen directo fue positivo en un 82,5% de los casos, la serología en un 90,5% y el cultivo en un 40%. En cuanto a la histopatología, fue positiva en el 100% de los casos. Cifras estas similares a las encontradas en la revisión de la literatura nacional e internacional consultada [7, 21,22, 34, 39, 43, 49,50].

Con respecto al análisis estadístico de concordancia, en este estudio se evaluó cuán acordes están entre sí los diferentes métodos diagnósticos utilizados en la PCM, es decir la consistencia entre los métodos. No fué objetivo de este trabajo comparar el patrón de referencia (cultivo) frente a las otras técnicas, lo cual implicaría evaluar la conformidad de las mismas respecto al patrón de oro. Esto también se denomina validez o desempeño operativo de una prueba diagnóstica [27]. Es conveniente recalcar que a la luz de nuestros conocimientos, no encontramos en la literatura revisada ningún trabajo similar con respecto al diagnóstico micológico, por lo tanto no tenemos referencias para contrastar con nuestros hallazgos.

Tomando en cuenta el examen directo y el cultivo, el porcentaje de concordancia fue de 49,12%. No se pudo calcular el índice Kappa debido a que el tamaño de la data fue insuficiente; sin embargo, al efectuar el test de Mc Nemar dio 4,17, lo cual nos permitió concluir que entre estos dos métodos no hay acuerdo.

En relación al cultivo y la serología el porcentaje fue de 59,09%. Se calculó el índice Kappa dando un valor de 0,11. Según la interpretación cualitativa de Landis y Koch el índice Kappa fue insignificante. El test de Mc Nemar resultó 2, por lo cual hay equivalencia Sin embargo, estas cifras indican que la equivalencia es baja.

En cuanto a la serología y el examen directo, se encontró un porcentaje de concordancia de 73,91%. Cuando se calculó el índice de Kappa éste fué de 0,20 es decir insignificante, según la interpretación cualitativa de Landis y Koch. El índice de Mc Nemar dió 0,88 es decir, que hay equivalencia. De esto podemos concluir que aún cuando hay equivalencia, esta resulta insignificante.

Con respecto al método diagnóstico efectuado mediante la histopatología, no se pudo calcular correlación alguna, ya que no hubo datos negativos, al resultar positivas todas las muestras procesadas.

Por todo lo antes mencionado podemos concluir que en este estudio, entre el examen directo y el cultivo no hubo concordancia, mientras que entre la serología y el examen directo si la hubo pero fue baja. Adicionalmente, en cuanto a la histopatología estos resultados avalan la eficacia de este método como diagnóstico para la PCM.

El significado de estos datos refleja que ninguno de los métodos puede sustituir al otro. El uso en conjunto de todos los métodos aumenta la posibilidad de llegar al diagnóstico de la PCM. Sin embargo el hecho de tener una prueba positiva, es diagnóstico de la enfermedad aun cuando las otras estén negativas. Por lo contrario si una de las pruebas resulta negativa no quiere decir que todas las demás tengan que dar negativo. Por lo antes mencionado; el clínico debe de tener en cuenta que si uno de estos métodos resulta negativo no descarta la presencia de la enfermedad.

Debido a que existen diferentes métodos diagnósticos que pueden ser utilizados para evidenciar un mismo fenómeno o enfermedad, la concordancia es un dato estadístico importante ya que permite ver cuál es la correspondencia o conformidad de una cosa con otra. La concordancia

adquiere importancia cuando se desea conocer si con un método determinado se va a obtener resultados equivalentes al otro, permitiendo de esta manera que puedan ser remplazados o intercambiados, por diferentes motivos tales como el hecho de que uno sea más sencillo, menos costoso, o sea menos invasivo que el otro. En conclusión, la concordancia no es más que el grado en que dos o más métodos están de acuerdo sobre un mismo fenómeno observado, por tal motivo fue aplicada en este trabajo.

Es importante recalcar que la concordancia no evalúa la validez o la certeza sobre una u otra observación con relación a un patrón de referencia, sino que evalúa cuán acordes están entre sí los métodos diagnósticos empleados.

Se debe hacer hincapié en que la desventaja más importante para realizar el análisis estadístico mediante el uso de las correlaciones en un estudio retrospectivo como el nuestro, estriba en que frecuentemente no se pueden obtener los datos completos de ambos métodos a contrastar lo que conlleva a que el tamaño de la muestra a estudiar pueda resultar pequeño.

Por todo lo antes expuesto nos parece importante recalcar los siguientes comentarios:

Como en todas las pruebas evaluadas en este estudio, concluimos que el examen directo en fresco de las muestras clínicas provenientes de pacientes con sospecha de PCM, es suficiente para establecer el diagnóstico. Presenta la ventaja de que es rápido, fácil de realizar, poco costoso y por lo tanto al alcance de cualquier laboratorio clínico. Tiene la desventaja de que por precipitación del examinador o insuficiente pericia puede resultar en falsos negativos. Existen trabajos en la literatura nacional y universal que avalan esta técnica [7, 22, 21,23-26,33, 51].

En relación al cultivo, es la prueba de oro o patrón de oro en esta entidad, sin embargo, en los trabajos revisados al respecto, algunos no mencionan claramente el porcentaje de positividad y en otros no se menciona el método. En los textos especializados en micología médica

refieren una sensibilidad para el cultivo entre el 40-60% [7, 22,25]. La ventaja del cultivo es que al dar positivo se tiene un 100% de seguridad que el hongo es el agente causal de la enfermedad. Las desventajas del cultivo serían el lento crecimiento del *P. brasiliensis* (4-6 semanas) y la genomovariedad de las cepas de este miceto que pueden influir en el crecimiento del mismo [24,25].

En cuanto a las técnicas de serología el método más empleado para el diagnóstico de la PCM es la inmunodifusión doble en gel de agarosa (IDD). Durante los últimos años esta técnica ha sido la prueba de elección para el diagnóstico inicial en pacientes con sospecha de PCM. La misma tiene una alta especificidad y sensibilidad; que puede variar de 65 a 100% dependiendo del antígeno que se utilice. Usando el antígeno gp43 los resultados muestran una sensibilidad del 84,3% y una especificidad del 98,9% [6,52].

La desventaja más importante de esta técnica es la presencia de falsos negativos, lo cual nos indica que un resultado negativo no significa que el paciente no tenga la enfermedad. Esto se observa en los pacientes con PCM que presentan una enfermedad severa, y el diagnóstico se realiza por el hallazgo en la muestra clínica de la levadura multibrotante al examen directo con KOH y tinta Parker. Se cree que esto sucede debido a que en estas situaciones y en el momento del diagnóstico serológico, el sistema inmune del paciente está deprimido y no hay suficientes anticuerpos que precipiten en la prueba de IDD. En estos casos, la intradermorreacción con paracocidioidina también resulta negativa. Entonces el paciente recibe el tratamiento inicial y después de uno a dos meses la inmunidad se restablece y la IDD se torna positiva [6].

Itano [53], propuso que este problema puede ser debido a la presencia de anticuerpos IgG, los cuales poseen una estructura que resulta del predominio de una molécula oligosacárida rica en manosa que se une a una parte de Fd de sólo uno de los brazos Fab de la molécula del anticuerpo. Como consecuencia, estas moléculas son funcionalmente univalentes y por lo tanto no precipitan. Por otro lado Neves et al [32],

demonstraron que la pérdida de reactividad observada al realizar la IDD, en el suero de los pacientes con PCM puede estar relacionada con la producción de anticuerpos de IgG2 de baja avidéz contra los epítopes. Al mismo tiempo, estas pruebas sirven para hacer el seguimiento de la terapia [54]. La fácil elaboración de la misma la hace de gran utilidad en un laboratorio clínico.

En relación con la histopatología, este es un examen que tiene una alta sensibilidad (87-97%). La tinción clásica específica para hongos más recomendada es la de Gomori-Grocot; en donde el miceto se observa en su fase tisular característica. También se puede utilizar la tinción de hematoxilina-eosina. Esta es una prueba muy eficiente. Las desventajas son que son laboriosas, que se necesita un procedimiento invasivo para la toma de la muestra y que depende de la pericia del observador [3, 4,33].

Para concluir, el diagnóstico de la PCM se basa en la identificación y el aislamiento del hongo. El hallazgo en el examen directo al fresco o con coloraciones especiales en una muestra clínica representativa, de una levadura multigemente con apariencia de rueda de timón, establece el diagnóstico de la enfermedad. El aislamiento del hongo en el cultivo es considerado el patrón de oro. Además, la IDD tiene una especificidad y sensibilidad alta y es empleada en el seguimiento del paciente. Las correlaciones obtenidas entre los métodos resultaron ser muy bajas; lo cual indica que entre ellos hay muy poco acuerdo. Esto implica que ningún método puede sustituir al otro, sino que todos deben ser utilizados.

## CONCLUSIONES

1) Entre el examen directo y el cultivo, no hay acuerdo o equivalencia. Lo cual implica que ambos métodos deben realizarse y que es más posible obtener un resultado positivo por el examen directo que por el cultivo.

2) Entre el examen directo y la serología; y entre el cultivo y la serología si hay concordancia pero es muy baja. Lo cual implica que los resultados obtenidos por uno de ellos, no necesariamente tiene que ser igual al obtenido por el otro método.

3) La Histopatología, es una técnica eficaz para el diagnóstico de la PCM, ya que en el presente estudio no se obtuvieron resultados negativos.

4) Para aumentar la posibilidad de llegar al diagnóstico de la PCM deben realizarse todos los métodos (examen directo en fresco, serología, cultivo, histopatología).

5) Un resultado negativo por cualquiera de los métodos (examen directo en fresco, serología, cultivo, histopatología), no descarta que el paciente tenga PCM.

6) Un resultado positivo es suficiente para establecer el diagnóstico

## RECOMENDACIONES

1. Se recomienda el uso de todas las pruebas diagnósticas para la PCM que estén disponibles, para de esta manera aumentar la posibilidad de llegar al diagnóstico.

2. Es obligatorio la realización del examen directo en fresco de toda muestra clínica que llegue a un laboratorio debido a que la presencia de las levaduras características de *Paracoccidioides brasiliensis* son diagnóstico de PCM. Además, es una prueba sencilla, poco costosa y al alcance de cualquier laboratorio clínico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fernández R, Arenas R. *Paracoccidioidomicosis. Actualización.* Dermatolo. Rev. Mex. 2009; 53(1):12-21.
2. Mata-Essayag S. *Micosis profundas.* En: Cátedra de Microbiología de Escuela de Medicina “Luis Razetti” UCV. *Microbiología Médica.* Caracas: 2010. p. 633-39.
3. Vargas J, Vargas R. Paracoccidioidomicosis. Actualizaciones. Rev. de enfermedades infecciosas y tropicales 2009;1(1):49-56.
4. Arenas R. *Micología médica ilustrada.* 3ª ed. México: McGraw Hill; 2008. p.200-8.
5. Lacaz C, Porto E, Martins J, Heins-Vaccari E, Melo N. *Paracoccidioidomycosis.* en: Lacaz C, Porto E, Martins J., Heins-Vaccari E, Melo N, editores. Tratado de Micología Médica. 9th ed. São Paulo: Servier; 2002.p. 639-729.
6. Pires de Camargo Z. Serology of Paracoccidioidomicosis Mycopathología 2008; 165:289-302.
7. Cano LE. *Paracoccidioides brasiliensis.* en: Díaz FJ, Estrada S, Franco L, Jaramillo JM, Maestre AE, Ospina S, Robledo C, Robledo J, editores. Microbiología de las infecciones humanas. Fundamentos básicos de medicina. 3ra ed. Medellín; 2007.p.751-59.
8. Borelli D. Concepto de Reservárea. La limitada Reservárea de la paracoccidioidomicosis. Dermatol Venez 1963; IV (1-2):71-7.

9. Torrado E, Castañeda E, de la Hoz F, Restrepo A. *Paracoccidioidomycosis: Definición de las áreas endémicas de Colombia*. Biomédica 2000; 20: 327-34.
10. Hebel F, Montenegro M, Bagagli E. Virulence profiles of ten *Paracoccidioides brasiliensis* isolates obtained from armadillos (*Dasypus novemcinctus*). Med Mycol 2003; 41(2):89-96.
11. Niño-Vega GA, Calcagno AM, San-Blas G, San-Blas F, et al. *RFLP analysis reveals marked geographical isolation between strains of Paracoccidioides brasiliensis*. Med Mycol 2000; 38(6):437-41.
12. San Blas G y col. *Paracoccidioides brasiliensis* y Paracoccidioidomycosis: molecular approaches to morphogenesis, diagnosis, epidemiology, taxonomy and genetics. Med Mycol 2002; 225-42.
13. McClelland E, Smith J. Gender specific differences in the immune response to infection. Arch Immunol Ther Exp 2011; 59:203-13.
14. Maldonado L. Respuesta inmune en paracoccidioidomycosis. Rev Soc Venez Microb 2001; 21:54-61.
15. P MR, Amanie H, Kurokawa C, Alen ME, A. Immunology of paracoccidioidomycosis 2011.
16. Ywazaky et al. Role of host glicosphingolipidos on *Paracoccidioides brasiliensis* adhesion. Mycopathol 2011; 171:325-32.
17. Shikanai-Yasuda MA, De Queiroz Telles Filho F, Pôncio Mendes R, Lopes Colombo A, Moretti ML. *Consenso em paracoccidioidomycose*. Rev Soc Brasileira Med Trop 2006; 39(3): 297-310.

18. Andrade M, Medrado A, De Brito I, De Almeida R. Oral paracoccidioidomycosis: a case without lung manifestations. *J Comtemp Dent Pract.* 2007;8(5):92-8.
19. Godoy H, Reichart P. Oral manifestations of paracoccidioidomycosis. Report of 21 cases from Argentina. *Mycoses.* 2003; 46(9-10):412-7.
20. Pérez R, Rosello A, Neumann W, Colella M, Pérez C, Hartung C, Abdul-Hadi S, Magaldi S, Landaeta M, Calatroni M, Mata Essayag S. *Estudio de casos de paracoccidioidomycosis infantil diagnosticados en el área de la Gran Caracas – Venezuela.* *Boletín Venez Infectol.* 2010; 21(1): 22-8.
21. Lacaz, C.S; Porto E; Martins, J: E: C; Heins-Vaccari, E.M. & Melo, N.T. (2002). Paracoccidioidomycosis, in Lacaz C, Porto E, Martins JEC; Heins-Vaccari, E.M. & Melo, N.T. (eds), *Tratado de micología médica* Lacaz 9na ed. Servier. Sao Paulo, Brazil, pp.639-729.
22. Cano L, González A, Lopera D, Naranjo T, Restrepo A. *Pulmonary Paracoccidioidomycosis: Clinical, Immunological and Histopathological Aspects* (Chapter 16) in Irusen E. *Lung Diseases – Selected state of the art reviews.* Intech Book. 2012.
23. Nucci, M. Colombo, Al. Paracoccidioidomycosis. *Curr Fungal Infec Rep.* 2009; 3(1):15-20.
24. Restrepo A. Paracoccidioidomycosis. *Clinical Mycology* 2003; 328-45.
25. Pérez S, García M y Blanco J. Diagnostico micológico algo está cambiando. 2008; *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26 (10):638-46.
26. J Alexandro Bonifaz Trujillo. Paracoccidioidomycosis Capítulo 19 en *Micología Médica* . Mc Graw Hill. Tercera edición. 2010.

27. Cortés E, Rubio J, Gaitán D. Métodos estadísticos de evaluación de la concordancia y la reproducibilidad de pruebas diagnósticas. Rev Colomb Obstet Ginecol 2010; 61:247-55.
28. Landis JR, Koch. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 1977; 33:159-74.
29. Molinero L. Medidas de concordancia para variables cualitativas. Asociación de la Sociedad española de hipertensión, Liga española para la lucha contra la hipertensión arterial; 2001.
30. Cepeda M, Pérez A, en: Ruiz M, Gómez C, Londoño D: Investigación Clínica: Epidemiología Clínica Aplicada. Centro editorial javeriano; 2001.p.288-301.
31. Gómez M; Danglot C, Vega L. Sinopsis de pruebas estadísticas no paramétricas. Cuando usarlas. Rev Mex Pediatr 2003; 70(2):91-9.
32. Neves A, Mamoni R, Rossi C, Camargo Z, Blotta M. Negative Immunodiffusion Test Results Obtained with Sera of Paracoccidioidomycosis Patients May Be Related to Low-Activity Immunoglobulin G2 Antibodies Directed against Carbohydrate Epitopes. Clin Vaccine Immunol 2003; 10:802-7.
33. Angulo A, Pollak L. Paracoccidioidomycosis. In: Baker RD, editors. The Pathologic Anatomy of Mycoses. Human Infection with fungi Actinomycetes and Algae. 1971.
34. Taronna I, Incerto A, Mata S, Mas R, Reymundez M, Iannelli A. Aspectos clínicos-epidemiológicos de la paracoccidioidomycosis en Venezuela: Revisión de 268 casos. Centro Med. 1996; 41(1):14-18.
35. Bellisimo R, Machado A, Martinez R. Paracoccidioidomycosis Epidemiological Features of 1000-Cases Series from a Hyperendemic Área on the Southeast of Brazil. Am j Trop Med Hyg. 2011; 85(3):546-50.

36. Olivero R, Domínguez A, Sánchez C, Di-liberti D. Diagnostico de paracoccidioidomicosis en el laboratorio de Micología de la Universidad de Carabobo durante 14 años (1992-2005). *Rev.Soc.Ven Microbiol.*2007; 27:349-63.
37. Shankar J, Restrepo A, Clemons K, Stevens D. *Hormones and the Resistence of Women to Paracoccidioidomycosis.* *Clin Microbiol Rev* 2011; 24(2): 296-313.
38. Dayer J, Campora N, Rusconi M, Tulian E. *Paracoccidioidomicosis en niños. Presentación de un caso típico.* Anuario Fundación Dr J.R. Villavicencio. N° XV. 2007.
39. Reviákina V, Panizo M, Dolande M, Maldonado B. Micosis profundas sistémicas: casuística del departamento de Micología del Instituto nacional de Higiene "Rafael Rangel" durante 5 años (1997-2001). *Rev Soc Microbiol.*2002;22(2):164-8).
40. Dolande M, Reviákina V, Panizo M, Maldonado B. *Diagnóstico inmunológico de las micosis sistémicas en pacientes con SIDA (1997-2001).* *Rev Soc Ven Microbiol.* 2002; 22:51-6.
41. Dos Santos AP, Guzman ZV. Estudio de micosis profundas sistémicas en necropsias realizadas en el Instituto Anatomopatológico de la Universidad Central de Venezuela entre los años 1993-2004. Trabajo Especial de Grado. Caracas, Venezuela; 2006.
42. Pascuali P, Rodríguez H. Paracoccidioidomicosis: Casuística de la consulta de micología médica del servicio de Dermatología del Hospital Universitario de Caracas 1980-1990. *Dermatol Venez* 1992; 30(4).
43. Paniago A, Albuquerque J, Setti E, Venancio R, Oliveira G, Pereira L, et al. *Paracoccidioidomycosis: a clinical and epidemiological study of 422*

*cases observed in MatoGrosso doSul*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2003.36(4): 455-59.

44. Tichellio A, Mangiaterra M, Giusiano G. Paracoccidioidomicosis en la Provincia de Formosa Argentina. Rev Arg de Microbiol.2008;40:24-9.

45. Buitrago M, Bernal L, Castelli M, Rodríguez J, Cuenca M. Histoplasmosis and Paracoccidioidomycosis in a Non-Endemic Area: A Review of cases and Diagnosis. Journal of travel Medicine 2011; 18:26-33.

46. Brummer E, Castañeda E, Restrepo A. Paracoccidioidomycosis: un Update. Clin Microbiol Rev. 1993;6(2):89-117.

47. Román Z, Barroeta S, Mejía M: Paracoccidioidomicosis em el estado Lara. Dermatol Venez 1986;24(2):35-9.

48. Cermeño J, Godoy G, Hernandez I, Orellan Y, Blanco Y, Penna S et al. Epidemiological study of paracoccidioidomycosis and histoplasmosis in a suburb of San Félix city, Bolivar state, Venezuela. Invest Clin. 2009; 50(2):213-20.

49. Loro K, Artioli A, Martínez R: Paracoccidioidomycoses in Patients Infected with HIV and not Infected With Human Immunodeficiency Virus: A Case-Control Study. Am J Trop Med Hyg 2009; 80(3):359-66.

50. Silva M, Oliveira G, Castro C, Pinto M, Ferreira M, Barberino J. Paracoccidioidomycosis no Hospital Universitario de Brasília. Rev de Soc Brasileira de Medicina Tropical 2008; 41 (2):169-72.

51. Paracoccidioidomycosis in Rippon JW. Medical Mycology. 3ra ed. Interamericana edit .1990.

52. Pires de Camargo Z. Serology of paracoccidioidomycosis Mycopathol.2008; 165:289-302 .
53. Itano En. Problems with asymmetric antibodies in paracoccidioidomycosis diagnosis. Proceeding of the VII Encontro Internacional sobre paracoccidioidomycose 1999.
54. Marquez S, de Mattos Grosso D,Lopes J,Colombo A,Souza M,Queiroz F, Pires S. Detection of Paracoccidioides brasiliensis gp70 Circulating Antigen and Follow-Up of Patients Undergoing Antimicrobial Therapy. J. Clin Microbiol 2004, 42(10):4480-86.
55. Marques S, Pires R, Barros D, Alentar M, Lastóricá j. Paracoccidioidomycosis: frecuencia, morfología e patogénesis de lesiones tegumentares. An Bras Dermatol. 2007; 82(4):411-7.
56. Tejos L, Pérez R, Cavallera E, Oliver M. Paracoccidioidomycosis: presentación inusual. Derm Ven 2003; 41.

