

Seroprevalencia de anticuerpos contra *Coccidioides* spp. en pacientes con diagnóstico clínico inicial de tuberculosis en Ensenada, Baja California, México

Baptista Rosas Raúl C * , **
 Riquelme Pérez Meritxell***
 Muñiz Salazar Raquel*
 Catalán Dibene Jovani***
 Zimbrón Hernández Miguel Á****
 Meza Ayala Arturo*****
 Cárdenas Bautista Dilayaxi*
 Arreola Cruz Alma Aurora*
 Radilla Chávez Patricia*
 Salas Vargas David S*

Antibodies seroprevalence against *Coccidioides* spp. in patients with clinical diagnosis of tuberculosis from Ensenada, Baja California, Mexico

Fecha de aceptación: fecha 2011

Resumen

ANTECEDENTES. La situación epidemiológica actual de la coccidioidomicosis (CM) no se conoce con detalle en el norte de México ya que su reporte no es obligatorio. Baja California es una zona endémica para CM, con altas prevalencias de tuberculosis (TB) y VIH/SIDA, con cuadros clínicos indistinguibles a los de CM. Lo cual incrementa la posibilidad de diagnosticar erróneamente. El análisis serológico ha sido utilizado como prueba diagnóstica en caso de sospecha clínica de enfermedad activa. El objetivo de este trabajo fue explorar la prevalencia de anticuerpos IgM e IgG anti *Coccidioides* en pacientes con diagnóstico clínico de TB en Ensenada, Baja California.

MATERIAL Y MÉTODOS. Se realizó un diagnóstico serológico en 38 muestras clínicas de pacientes con diagnóstico previo de TB pulmonar u ósea, con falla o recaída a tratamiento antifímico, en dos hospitales de referencia en Ensenada, Baja California.

RESULTADOS. El 39% de las muestras fueron positivas para anticuerpos anticoccidioidiales contra antígenos de superficie. De éstas, el 87% fueron positivas para IgM, y el 4% fueron positivas para IgG. No se detectaron muestras positivas para VIH-1 y 2.

DISCUSIÓN. Aproximadamente el 40% de los pacientes analizados y diagnosticados previamente con TB presentaron anticuerpos contra *Coccidioides* spp., lo que sugiere un probable incremento en las tasas de CM en Baja California. Sólo un paciente resultó positivo para IgG pero con cultivo y baciloscoía negativos de *Mycobacterium tuberculosis*. Lo anterior indica que es un cuadro de CM primaria diseminada, o reactivación de un cuadro subclínico no diagnosticado previamente.

Palabras clave: *coccidioidomycosis, Baja California, serología, tuberculosis, VIH.*

Abstract

The current epidemiological situation of Coccidioidomycosis (CM) is not known in detail in northern Mexico and its report is not required. Baja California is an endemic area with high prevalence of tuberculosis (TB) and HIV/AIDS, disease that could be indistinguishable from those of CM. Serological testing has been used as a diagnostic test in case of clinical suspicion of active disease. The aim of this study was to explore the prevalence of IgM and IgG anti *Coccidioides* in patients with clinical diagnosis of TB in Ensenada, Baja California.

MATERIAL AND METHODS. We performed a serological diagnosis in 38 clinical samples from patients previously diagnosed with pulmonary or bone TB, with failure or relapse with antituberculous treatment in two referral hospitals in Ensenada, Baja California.

RESULTS. 39% of the samples were positive for antibodies against *Coccidioides* spp. surface antigens, of these, 87% were positive for IgM, 4% were positive for IgG. and 4% were positive to both antibodies. No positive samples were detected HIV-1 and 2.

DISCUSSION. Approximately 40% of the analyzed patients previously diagnosed with TB had antibodies against *Coccidioides* spp., suggesting a likely increase in the rates of CM in Baja California. Only one patient was positive to both antibodies, but with a negative culture and bacilloscopy of *Mycobacterium tuberculosis*. This would be a sign of disseminated primary CM or reactivation of subclinical under diagnosed previous disease.

Keywords: *Coccidioidomycosis, Baja California, serology, tuberculosis, HIV.*

*Laboratorio de Epidemiología Molecular, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Baja California. Blvd. Zertuche y Blvd. de los Lagos s/n. Fracc. Valle Dorado. CP 22890. Ensenada, Baja California.

**Hospital Militar Regional El Ciprés, Ensenada, Baja California.

***Departamento de Microbiología, División de Biología Experimental y Aplicada, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE).

****Departamento de Epidemiología, Hospital General de Ensenada.

*****Programa Multidisciplinario de Seropositivos de Ensenada (PROMISE), Facultad de Ciencias Administrativas y Sociales, Universidad Autónoma de Baja California.

Correspondencia: Raquel Muñiz Salazar.

Laboratorio de Epidemiología Molecular, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Baja California. Blvd. Zertuche y Blvd. de los Lagos s/n. Fracc. Valle Dorado. CP 22890. Ensenada, Baja California.

Dirección electrónica: ramusal@uabc.edu.mx

Introducción

La coccidioidomicosis (CM) es una enfermedad infecciosa endémica localizada principalmente en zonas desérticas del Oeste de Norteamérica, involucrando los estados de Arizona, California, Texas, Nuevo México y Utah en Estados Unidos, y Baja California, Sonora, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas en México.¹ Esta micosis sistémica es causada por hongos ascomicetos del género *Coccidioides*, de los cuales hasta el momento se han identificado dos especies: *C. immitis* y *C. posadasii*.² Reportes compatibles con lesiones óseas en la fauna del holoceno temprano³ y restos antropológicos, indican que la enfermedad probablemente era prevalente entre grupos humanos amerindios precolombinos.^{4,5} A mediados del siglo XIX, se registran las primeras descripciones de lesiones cutáneas compatibles con el granuloma coccidioidal documentadas por los médicos que acompañaron a trabajadores y jornaleros en el área agrícola del Valle de San Joaquín en California, la cual es una de las principales áreas endémicas para la CM.

En las dos últimas décadas se ha incrementado notablemente el reporte de casos y brotes epidémicos relacionados con factores ambientales y a la pandemia de VIH-SIDA.^{6,7} Se estima que sólo en Estados Unidos existen más de 150,000 casos de primoinfección por *Coccidioides spp.* anualmente.^{8,9} Sin embargo, la situación de CM en México está prácticamente inexplorada. Esto es debido a que, desde el año 1995, dicha infección fue excluida del informe para el registro epidemiológico nacional, por lo que no se cuenta con registros actualizados de la incidencia de la CM en México. Sólo existen reportes aislados de casos de CM, principalmente en Nuevo León, Coahuila, Sonora y Baja California. No obstante, se presume que la situación actual de la enfermedad puede estar siguiendo un desarrollo parecido al de Estados Unidos, dado que los estados endémicos para CM en México se encuentran en la frontera con la región endémica de dicho país.

Esta zona fronteriza, también presenta altas prevalencias de tuberculosis (TB) e infección por VIH/SIDA, con muchos cuadros clínicos indistinguibles a los de la CM pulmonar.⁷ Para el caso de Baja California, se tiene registro de una alta prevalencia de TB y CM entre la población pediátrica. Estudios realizados en la ciudad de Tijuana muestran que el 46% de la población escolar es reacto a tuberculina y el 10% es reacto a coccidioidina.¹⁰ Otros estudios preliminares llevados a cabo en esa misma ciudad demuestran que 1 de cada 6 casos de pacientes con diagnóstico clínico de TB fueron positivos a CM durante el estudio microbiológico.¹¹ Otros autores también han confirmado que TB y CM son padecimientos que comparten características epidemiológicas, clínicas e histopatológicas muy similares y que pueden coexistir ambas enfermedades en el mismo paciente.¹²⁻¹⁴ Esto es muy importante, debido a que la posibilidad de diagnosticar erróneamente, se incrementa sustancialmente. Para el caso de Baja California, es frecuente que al paciente durante el primer nivel de atención se le diagnostique inmediatamente con TB, iniciando tratamientos injustificados, los cuales a las semanas o meses fracasan, y la salud del paciente se deteriora. Es hasta este

momento, cuando se empieza a considerar otras opciones diagnósticas.¹⁵ En México, se han reportado casos con diagnóstico inicial de TB que posteriormente demostraron existencia de *Coccidioides* en estudios anatomicopatológicos e inmunoserológicos.^{6,16-18}

Para el diagnóstico de CM, debido al problema de que los cultivos son altamente infecciosos y requieren altos niveles de bioseguridad en los laboratorios, la logística para hacer llegar las muestras para confirmación micológica al Instituto de Referencia y Diagnóstico Epidemiológico (InDRE) de la Secretaría de Salud, dificulta la confirmación temprana de la enfermedad. Hasta este momento en los laboratorios del Instituto de Servicios de Salud (ISESALUD) en el área endémica para la enfermedad, no se cuenta con el nivel de bioseguridad para el cultivo del hongo. El análisis serológico es una herramienta útil para explorar la prevalencia de esta enfermedad en áreas altamente endémicas, además de utilizarse como prueba diagnóstica en caso de sospecha clínica de la enfermedad activa.

Por tal razón, se decidió realizar un análisis preliminar para explorar la prevalencia de anticuerpos IgM e IgG anti *Coccidioides* en pacientes con diagnóstico clínico de TB en Ensenada, Baja California.

Material y métodos

Muestras

Se llevó a cabo un estudio prospectivo piloto sobre presencia de anticuerpos contra *Coccidioides spp.* en muestras clínicas de suero sanguíneo obtenidas de pacientes del Hospital General ISESALUD y del Hospital Militar Regional, El Ciprés, localizados en la ciudad de Ensenada, Baja California. Para la toma de muestras, se consideraron los siguientes criterios de inclusión: 1) Sospecha clínica de TB pulmonar u ósea con baciloscopías negativas; y 2) Pacientes con diagnóstico de TB pulmonar u ósea con falla o recaída después de tratamiento con antifúngicos. Se incluyeron pacientes de ambos sexos y sin restricciones sobre su edad. De los pacientes seleccionados, se obtuvieron muestras de sangre venosa (5 ml) en tubos con anticoagulante EDTA y se centrifugaron a 2000 rpm por 10 minutos para separar el paquete celular del suero. Las muestras clínicas de suero se mantuvieron bajo refrigeración a 4°C hasta su análisis dentro de las primeras 72 horas de obtenida la muestra y posteriormente se congelaron a -85°C para su resguardo. Previo a su procesamiento, las muestras se sometieron a inactivación del complemento en baño maría a 56°C durante 20 minutos. Posteriormente se realizaron las pruebas de prevalencia de anticuerpos IgM e IgG anti *Coccidioides*.

Determinación de IgM anticoccidioides

Se utilizó la prueba de aglutinación con partículas de látex (*Coccidioides LA antibody test system Immuno-Mycologics Inc.*), empleando 25 µl de suero de cada paciente, utilizando un control positivo proporcionado por el fabricante y un control negativo con agua destilada, incubando por 10 minutos con

movimiento rotatorio y realizando su lectura de acuerdo con una escala comparativa con el control positivo de + a +++.

Determinación de anticuerpos IgG

Se utilizó la prueba de doble inmunodifusión en fase sólida en gel de agarosa al 2% de acuerdo con el método descrito por Ouchterlony¹⁹ empleando 25 µl de suero de cada uno de los pacientes con sus respectivos controles positivos y antígeno (*Coccidioides ID antibody test system Immuno-Mycologics Inc.*). Cada placa de inmunodifusión, con dos controles positivos y cuatro sueros problema se sometió a incubación por 24 horas, dentro de una cámara húmeda. La cual fue construida con una caja de Petri de 10 centímetros de diámetro con una varilla de vidrio en su interior con forma de "V" y solución salina isotónica para evitar la deshidratación del gel. Posteriormente se llevó a cabo la lectura de la placa de inmunodifusión bajo visión directa con incidencia de un haz de luz blanca a 45° de inclinación para visualizar las bandas de precipitación de la reacción antígeno-anticuerpo, tomando esta presencia de bandas como resultado positivo, y su ausencia como resultado negativo.

Determinación de VIH-1 y 2

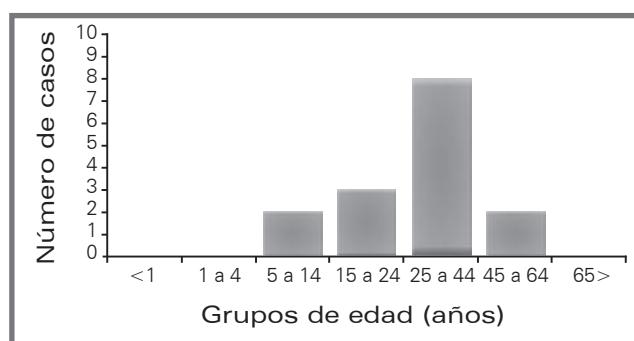
Todos los pacientes fueron sometidos a pruebas de tamizaje para detección de infección por VIH- 1 y 2 de acuerdo a la NOM-003-SSA2-1993, empleando prueba rápida en casete de tercera generación de un solo paso para la determinación cualitativa de anticuerpos Anti-VIH 1 y Anti-VIH 2 en membrana sólida (Laboratorios Lafon, México DF).

Resultados

Durante el periodo del 28 de mayo al 28 de diciembre del 2007, se obtuvieron 38 muestras clínicas de pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión previamente indicados, y bajo consentimiento informado del paciente o su tutor (en caso de ser menor de edad). Todos los pacientes presentaron baciloscopías negativas. Del total de las muestras clínicas, 15 sueros (39%) resultaron positivos para anticuerpos contra antígenos de superficie anticoccidioidiales.

Figura 1

Número de casos con diagnóstico inicial de tuberculosis con positividad a anticuerpos contra *Coccidioides spp.*



De estas 15 muestras, 13 sueros fueron positivos para IgM, un suero resultó positivo para IgG y un suero resultó positivo para ambos anticuerpos. El intervalo de edad de pacientes positivos analizados fue de 9 a 68 años (± 15.08 d.e.) con una media de 31 años y una moda de 37 años. El grupo de edad más afectado fue el comprendido entre los 25 y 44 años (figura 1). Las muestras positivas para anticuerpos anticoccidioidiales, fueron negativas para la detección de VIH en todos los casos.

Discusión

Los resultados de esta investigación orientan a un probable incremento en las tasas de CM en Baja California, determinándose que de 38 pacientes analizados en un periodo de siete meses, aproximadamente un 40% resultó ser positivo serológicamente a CM. Lo anterior coincide con lo que se ha reportado en otros estados endémicos para CM en México. En Sonora se registraron 13 casos con manifestaciones clínicas de enfermedad diseminada en el periodo de 1983 a 2004.¹⁶ En Nuevo León, se reportaron 31 casos de CM entre 1983 a 2000,¹⁸ y 36 casos entre 1986 a 2002.²⁰ Previamente se había estimado que en las principales regiones endémicas del Norte de México se presentaban poco más de 1,500 casos de CM primaria anualmente, basados fundamentalmente en tasas de incidencia documentadas anteriores a 1994,¹ así como del reporte de granulomas coccidioidiales reportados entre 1955 a 1996 en el Centro Dermatológico Pascua, la clínica de referencia más importante del país en lo que respecta a las enfermedades de la piel.²¹ De acuerdo con el Conteo Nacional de Población 1995, el área metropolitana de Tijuana contaba con 1,060,068 habitantes, y considerando las tasas de incidencia disponibles para entonces, de 1.2 casos por 100,000 habitantes¹ se esperaría registrar cerca de 12 casos de enfermedad clínica diseminada anualmente sólo en Tijuana. Un análisis preliminar retrospectivo de 2004 a la fecha, en un Hospital de Especialidades en Tijuana (Clínica 1 del IMSS) reporta 26 casos de CM diseminada demostrada histopatológicamente (Becuar González, comunicación personal). Considerando, que estos datos son solamente de un centro hospitalario del área urbana, el cual sólo concentra a una fracción no significativa de la población, esto podría representar un incremento importante en las tasas de incidencia tomando como referencia resultados de estudios epidemiológicos previos.²² En el caso de Ensenada, donde se realizó el estudio actual, la población para 1995 era de 315,289. Si consideramos la misma tasa de incidencia que para Tijuana, se esperaría observar aproximadamente cuatro casos de CM en Ensenada. Sin embargo, los resultados actuales demuestran que los casos reportados son casi cuatro veces más que lo esperado.

La totalidad de los casos analizados en este estudio presentaban de 2 meses a 10 años de evolución y casi la mitad de ellos, habían tenido fracaso con el tratamiento o recaída de la enfermedad. Ninguno de los casos reportados en este trabajo fue sometido a tratamiento antimicótico previamente hasta esta intervención. Otro aspecto que impide el diagnóstico precoz y oportuno para diferenciar de la TB, es

la ausencia de recursos diagnósticos en los hospitales públicos, a pesar de que los hospitales de referencia concentran poblaciones procedentes de regiones altamente endémicas conocidas desde hace más de 60 años.²³ Previamente, en las instituciones donde se llevó a cabo este proyecto, no se contaba con serología diagnóstica, por lo que se han iniciado los primeros esfuerzos para el aislamiento mediante cultivo tanto de micobacterias como de *Coccidioides* spp. con recursos locales.

En todos los casos de pacientes con diagnóstico clínico inicial de TB e ingreso a tratamiento antifímico sin demostración microbiológica, se ha encontrado una evolución muy prolongada. Gran parte de las series reportadas en México señalan que la mayoría de casos con manifestaciones clínicas de CM diseminada se clasifican como casos de TB.¹⁶ La mayor parte de los casos, con manifestaciones agudas sugestivas de la enfermedad, no son referidos para seguimiento epidemiológico, y sólo en los casos de falla del tratamiento o recidiva de la neumopatía, se sospechan otras causas.

A pesar de la extensa literatura disponible, donde se hace evidente un alto riesgo de infección y complicacio-

nes por diseminación en pacientes inmunodeprimidos con infección por VIH-SIDA, no se registró ningún caso en este estudio inicial. Sin embargo, y debido al sesgo metodológico evidente en el diagnóstico, probablemente muchos de los pacientes inmunodeprimidos con CM tendrán un periodo corto de supervivencia.

Sólo uno de los pacientes resultó positivo para IgG. Los anticuerpos IgG son los que se producen en la fase crónica del padecimiento infeccioso, aparecen más tarde a partir de la semana seis de evolución de la enfermedad y persisten por muchos meses. Mientras que los IgM son los anticuerpos que se producen durante la fase aguda de la enfermedad, a partir de la segunda semana y persisten hasta por 3 a 4 meses. Nuestra hipótesis para explicar esto, es que la mayor parte de pacientes que están bajo tratamiento en este programa con un cuadro clínico similar al de TB, pero con baciloscopías y cultivos para *M. tuberculosis* negativos y serología positiva a IgM, son: o bien cuadros de CM primaria diseminada, o reactivación de un cuadro subclínico no diagnosticado previamente. La trascendencia clínica de esta evidencia es que la mayor parte de los pacientes tiene un cuadro activo reciente de la enfermedad.

Referencias

1. Baptista-Rosas RC, Riquelme M. "Epidemiología de la Coccidioidomycosis en México". *Rev Iberoam Micol* 2007; 24: 100-105.
2. Fisher M Koenig GL, White TJ, Taylor JW. "Molecular and phenotypic description of *Coccidioides posadasii* sp. nov., previously recognized as the non-California population of *Coccidioides immitis*". *Mycologia* 2002; 94: 73-84.
3. Morrow W. "Holocene coccidioidomycosis: Valley Fever in early Holocene bison (*Bison antiquus*)". *Mycologia* 2006; 98: 669-677.
4. Harrison W, Merbs CF, Leathers CR. "Evidence of coccidioidomycosis in the skeleton of an ancient Arizona Indian". *J Infect Dis* 1991; 164: 436-437.
5. Temple D. "A possible case of coccidioidomycosis from the Los Muertos site, Tempe, Arizona". *Int J Ostearcheol* 2006; 16: 316-327.
6. Hurtado-Montalvo JA, Cerecer-Callu P, Esquer-Zamorano RA. "Diagnóstico diferencial de coccidioidomycosis y tuberculosis en el niño". *Infec Microbiol* 1999; 19:181-186.
7. Centers of Disease Control and Prevention. Public health dispatch: "Coccidioidomycosis.- among persons attending the Worl Championship of model Airplane Flying.- Kern County". *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001; 50: 1106-1107.
8. Chiller TM, Galgiani JN, Stevens DA. "Coccidioidomycosis". *Infec Dis Clin North Am* 2003; 17: 41-57.
9. Galgiani JN, Ampel NM, Blair JE "Coccidioidomycosis". *Clin Infect Dis* 2005; 41: 1217-1223.
10. Laniado-Laborín R, Cabrales-Vargas N, López-Espinoza G, Lepe-Zúñiga JL, Quiñonez-Moreno S, Rico-Vargas CE. "Prevalencia de infección tuberculosa en escolares de la ciudad de Tijuana, México". *Salud pública Méx* 1998; 40: 47-52.
11. Burgueño-Duarte V. *Aislamiento de Coccidioides immitis en muestras de pacientes con diagnóstico presuntivo de tuberculosis pulmonar en la ciudad de Tijuana, Baja California*. Universidad Autónoma de Baja California, 1997.
12. Stein HF. "Coexisting pulmonary coccidioidomycosis and TB". *Am Rev TB* 1953; 67: 477-489.
13. Spivey CG, Jones FL, Bopp RK. "Cavitary coccidioidomycosis: experience in a tuberculosis hospital outside the endemic area". *Dis Chest* 1969; 56: 13-18.
14. Castañeda-Godoy R, Laniado-Laborin R. "Coexistencia de TB y coccidioidomycosis. Presentación de dos casos clínicos". *Rev Inst Nal Enf Resp Mex* 2002; 15: 98-101.
15. American Thoracic Society. "Diagnostic Standard and classification of TB in adults and children". *Am Respir Crit Care Med*. 2000; 161: 1376-1395.
16. Calderón-Garcidueñas A, Piña-Osuna K, Leal-Moreno AM, López-Cárdenas A, Cerdá-Flores RM. "Características clinicopatológicas y distribución del número de autopsias de pacientes fallecidos por coccidioidomycosis en un hospital de referencia del noreste de México". *Gac Méd Méx* 2004; 140: 399-404.
17. González-Benavides J. "Panorama de la Coccidioidomycosis en Nuevo León de 1978 a 1988". *Gac Med Mex* 1991; 127: :427-432.
18. Muñoz B, Castañón RL, Calderón I, Vazquez ME, Manjarrez ME. "Parasitic mycelial forms of *Coccidioides* species in mexican patients". *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1247-1249.
19. Ouchterlony O, Nilsson LA. "Immunodiffusion and immunolectrophoresis", en Weir DM, Herzerberg LA, Blackwell C. *Handbook of Experimental Immunology*, vol. 1, 4a. ed. Blackwell, Oxford, UK 1986: 32.1-32.50.
20. Torres-Nájera M, Garza-Galván S, Cerdá-Flores RM, Nocedal-Rustrián FC, Calderón-Garcidueñas AL. "occidioidomycosis osteoarticular: estudio clinicopatológico

- de una serie de 36 pacientes mexicanos". *Rev Invest C/in* 2006; 58: 211-216.
21. Padilla D. "Laboratorio de Micología". *Rev Cen Derm Pascua Mex* 1997; 7: 182-185.
22. Fredrich B. "A skin test survey of valley fever in Tijuana, Mexico". *Soc Sci Med* 1989; 29: 1217-1227.
23. Laniado-Laborin R. "Coccidioidomycosis. Más que una enfermedad regional". *Rev Inst Nac Enf Resp* 2006; 19: 301-308.

Agradecimientos

Agradecemos al Departamento de Microbiología de la División de Biología Experimental y Aplicada del CICESE y al personal que labora en el servicio de Epidemiología del Hospital General de Ensenada por su apoyo para la realización de este trabajo.

Este proyecto fue apoyado por el Programa PROMISE UABC por medio de fondos de la 11^a. Convocatoria para proyectos internos de Investigación de la Universidad Autónoma de Baja California.