



MENINGOENCEFALITIS CRIPTOCÓCICA. DIAGNÓSTICO DURANTE ESTUDIO DE LCR.

CRYPTOCOCCAL MENINGOENEPHALITIS. DIAGNOSIS DURING CSF STUDY

Autores

Alexia Rubio Peral¹
Jorge Gaitán Pitera¹
Jose Miguel Manchón Castilla²

Filiación

¹Servicio de Análisis Clínicos
Complejo Hospitalario La Mancha Centro
²Servicio de Análisis Clínicos
Hospital Universitario de Badajoz

Fecha de publicación

30 junio 2021

Páginas

Páginas 11-15

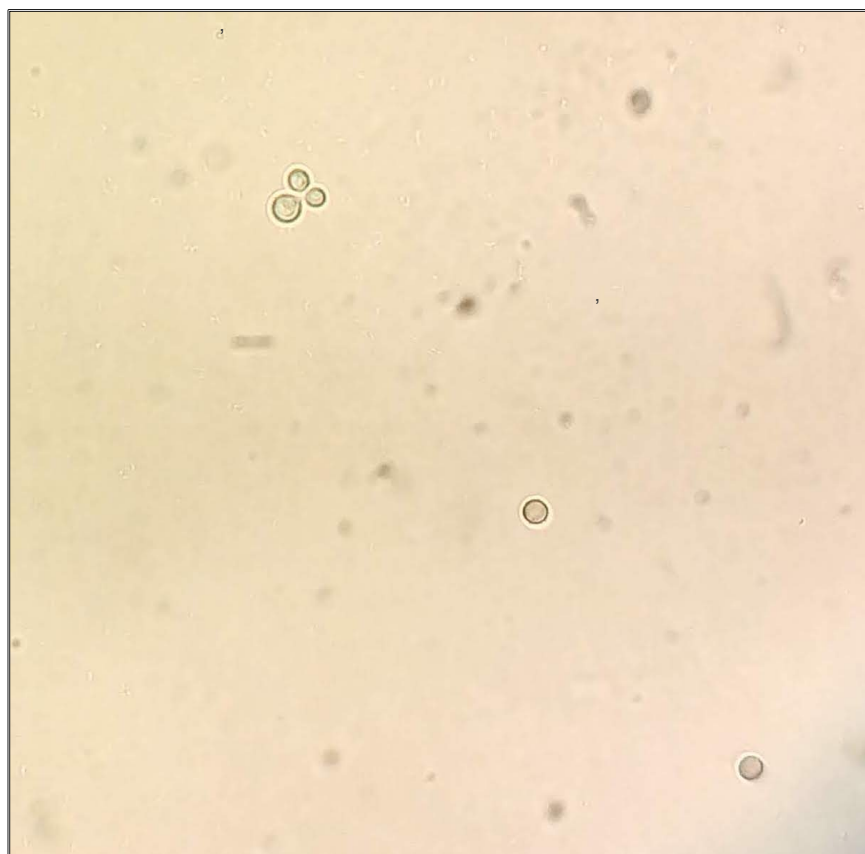


Figura 1. Imagen tomada en luz ordinaria (oc x10, obj x40). En la que se observa estructuras compatibles con levaduras en LCR.

Figure 1. Image taken in ordinary light (oc x10, obj x40). In which structures compatible with yeasts are observed in CSF.

Paciente varón de 36 años natural de Brasil que reside en España desde hace 3 meses, acude a urgencias refiriendo cefalea holocraneal y pulsátil de 3 meses de evolución, aunque con progresión en su intensidad. El paciente niega contactos sexuales de riesgo, consumo de drogas, toma de comida en mal estado y contacto con animales.

Se realiza una punción lumbar junto con analítica básica, que muestra anemia y un aumento de la PCR (1,4 mg/dL).

En el recuento celular del LCR se observan 53 hematíes/ μL , 5 leucocitos/ μL y estructuras compatibles con levaduras (Imagen 1). La bioquímica del LCR presenta una glucosa de 22 mg/dL (VN: 50-80) y unas proteínas de 44.0 mg/dL (VN: 5-40).

A 36-year-old male patient from Brazil who has lived in Spain for 3 months, comes to the emergency unit with a 3-month history of holocranial and throbbing headache, although with progression in intensity. The patient denies risky sexual contacts, drug use, eating spoiled food and contact with animals.

A lumbar puncture is performed, along with basic analysis that show anemia and increase in CRP (1.4 mg / dL).

In the CSF count 53 red blood cells / μL , 5 leukocytes / μL and structures compatible with yeast (Image 1) are observed. CSF biochemistry shows glucose of 22 mg / dL (NV: 50-80) and proteins of 44.0 mg / dL (NV: 15-40).

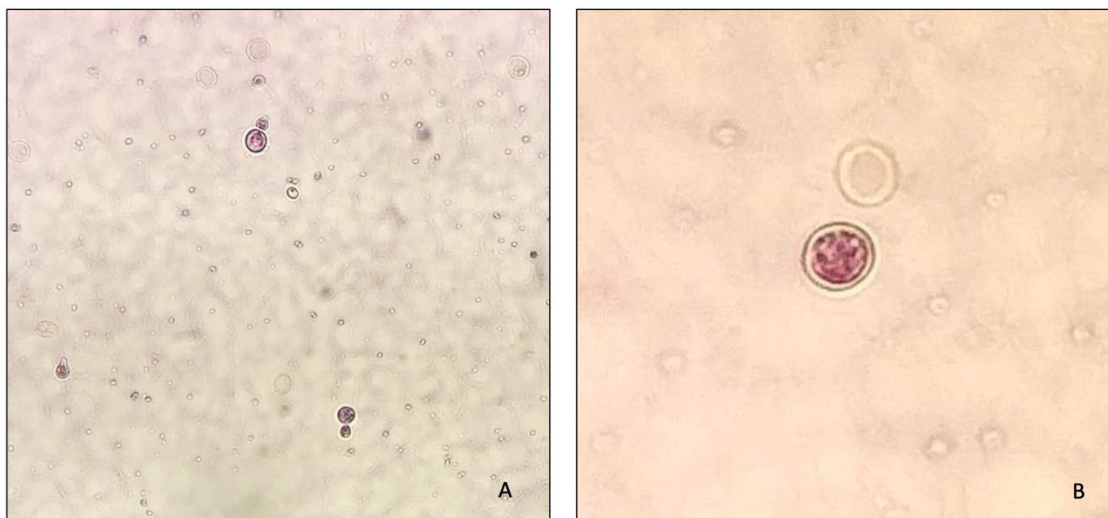


Figura 2. Imágenes tomadas en luz ordinaria (oc x10, obj x100). Muestra de LCR en porta-objetos pre-teñido (Testsimplerts®). En la imagen A, se observa la presencia de estructuras levaduriformes (en violeta) junto con hematíes sin teñir. En la imagen B podemos observar en detalle lo que parece ser una levadura encapsulada junto con un hematíe.

Figure 2. Images taken in ordinary light (oc x10, obj x100). LCR sample in pre-stained slide (Testsimplerts®). In A image, the presence of yeast structures (in violet) is observed along with unstained red blood cells. In B image, we can see in detail what appears to be an encapsulated yeast together with a red blood cell.

Ante la carencia de tinta china en ese momento para la visualización de las cápsulas, se decide realizar una tinción diferencial utilizando portaobjetos pre-teñidos (Testsimplets®)(figura 2) y una tinción Gram (figura 3).

En la tinción diferencial podemos observar estructuras levaduriformes teñidas de violeta ante las que se les presume la presencia de una cápsula. En la tinción Gram, observamos estructuras Gram-positivas que concuerdan con levaduras.

Se comunica al médico peticionario la sospecha de una infección por *Cryptococcus*, pendiente de confirmar por microbiología, y se le anima a realizar una petición de serología infecciosa por VIH. Se completa el estudio realizando un cultivo de la muestra, y una petición de panel múltiple de biología molecular de meningitis por FilmArray®.

Given the lack of India ink to visualize the capsules, it was decided to perform a differential staining using pre-stained slides (Testsimplets®) (figure 2) and a Gram stain (figure 3).

In the differential staining, we can observe yeast structures stained with violet surrounded by a capsule. On the Gram stain, we observe Gram-positive structures that are consistent with yeast.

Doctor is informed of the suspicion of a *Cryptococcus* infection, pending confirmation by microbiology, and he is encouraged to make a request for HIV infectious serology. The study is completed by performing a culture of the sample, and a request for a multiple panel of molecular biology of meningitis by FilmArray®.

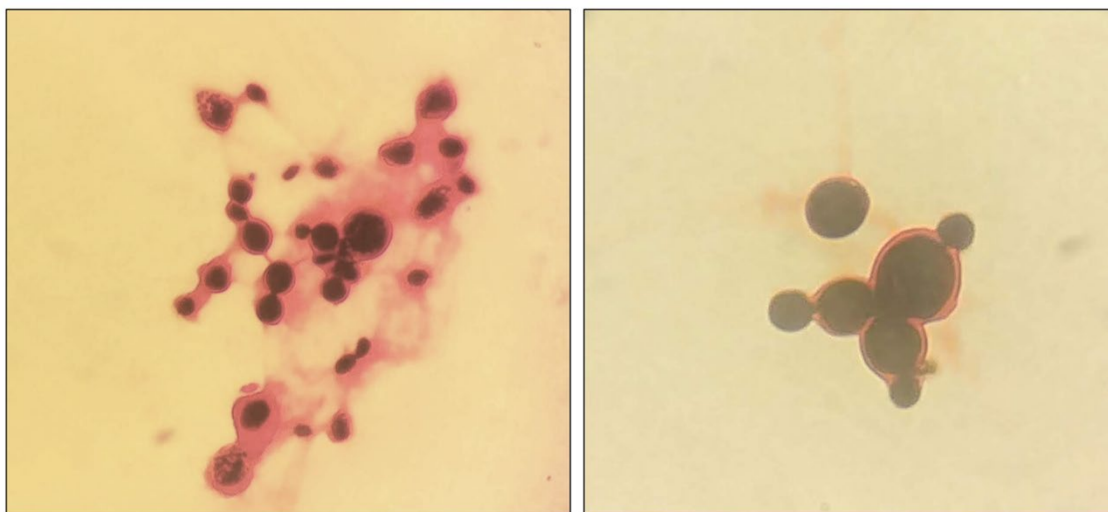


Figura 3. Imágenes tomadas en luz ordinaria (oc x10, obj x100). Tinción Gram del LCR, en el que se observan estructuras levaduriformes Gram-positivas.

Los resultados una serología positiva por VIH (con un recuento de linfocitos CD4 de 65 células / μ L, lo que nos da una idea de lo avanzada que se encuentra la infección) y un FilmArray® positivo a

Figure 3: Images taken in ordinary light (oc x10, obj x100). Gram stain of CSF, showing Gram-positive yeast-like structures.

The results show a positive serology for HIV (with a CD4 lymphocyte count of 65 cells / μ L, which gives us an idea of how advanced the infection is) and a positive FilmArray® for *Cryptococcus*

Cryptococcus neoformans/gattii. Se realiza una tinción de tinta china a la muestra de LCR (figura 4) una vez que la tenemos disponible.

La infección por VIH se confirma como VIH-1 por técnicas de inmunoblot, con una carga viral de 803000 copias/mL.

neoformans / gattii. An India ink stain is performed on the CSF sample (figure 4) once it is available in our laboratory.

HIV infection is confirmed as HIV-1 by immunoblot techniques, with a viral load of 803,000 copies / mL.



Figura 4. Imagen tomada en luz ordinaria (oc x10, obj x40). Tinción negativa de LCR con tinta china que revela la llamativa cápsula que rodea a las levaduras.

Figure 4. Image taken in bright field microscopy (oc x10, obj x40). Negative staining of CSF with India ink revealing the striking capsule surrounding the yeast.

En el cultivo en agar Sabouraud se aísla la levadura *Cryptococcus neoformans* identificada a través de MALDI-TOF, confirmando finalmente el diagnóstico de meningoencefalitis criptocócica.

The yeast *Cryptococcus neoformans* identified through MALDI-TOF is isolated from the culture on Sabouraud agar, finally confirming the diagnosis of cryptococcal meningoencephalitis.

El diagnóstico de sospecha de meningitis criptocócica se logra durante el análisis del LCR a través de la observación de estructuras levaduriformes, ya que, al no existir diagnóstico de VIH previo u otras patologías como inmunosupresión o diabetes, esta suposición no entra dentro del

The diagnosis of suspected cryptococcal meningitis is achieved during the analysis of CSF through the observation of yeast structures, since, as there is no previous diagnosis of HIV or other pathologies such as immunosuppression or diabetes this assumption does not fall within the differential

diagnóstico diferencial del paciente a su llegada a urgencias.

Un diagnóstico y tratamiento tempranos pueden ayudar a reducir la mortalidad de la meningitis criptocócica, un 15 % de la mortalidad relacionada con el SIDA a nivel mundial.

La tinción negativa con tinta china constituye una metodología diagnóstica presuntiva de criptococosis, siendo uno de los métodos más utilizados en el laboratorio. En nuestro caso conseguimos una buena visualización de la cápsula utilizando los porta-objetos pre-teñidos.

diagnosis of the patient upon arrival at the emergency unit.

Early diagnosis and treatment can help reduce mortality from cryptococcal meningitis, a 15% of AIDS-related mortality worldwide.

Negative staining with India ink constitutes a presumptive diagnostic methodology for cryptococcosis, being one of the most used methods in the laboratory, although in our case we achieved a good visualization of the cryptococcal capsule using the slide pre-stained.

Bibliografía/References:

1. Gary M Cox, John R Perfect. Epidemiology, clinical manifestations, and diagnosis of *Cryptococcus neoformans* meningoencephalitis in patients with HIV. UpToDate. 2020
2. Cathy A Petti, Christopher R Polage M. Molecular diagnosis of central nervous system infections. pToDate. 2015
3. Codina MG, Cuero M de, Echevarría JE, Vicente. Diagnóstico microbiológico de las infecciones del sistema nervioso central. Procedimientos en Microbiología Clínica. SEIMC. 2010.