

## การศึกษาการใช้การตรวจแผ่นฟิล์มเลือดในการคัดกรองโรคฮิสโตพลาสโมซิสแบบกระจายในผู้ป่วยโรคเอดส์ 50 ราย ณ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

วิโรจน์ ไวนานิชกิจ<sup>1</sup>, เทพรัตน์ ไชยวงศ์<sup>2</sup>

<sup>1</sup>อาจารย์, ภาควิชาเวชศาสตร์ชั้นสูง คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

<sup>2</sup>นายแพทย์ หน่วยกึ่งวิทยา, ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330

## Blood Smear Examination for Disseminated Histoplasmosis in 50 HIV Seropositive Patients in Chulalongkorn Hospital

Viroj Wiwanitkit<sup>1</sup>, Thepparath Chaiwong<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Lecture, Department of Laboratory Medicine,

<sup>2</sup> Physician, Mycology Unit, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

**ความเดิม:** เชื้อรา *Histoplasmosis capsulatum* ก่อให้เกิดโรคฮิสโตพลาสโมซิส พบได้ทั่วไปและมักก่อโรคในผู้ป่วยติดเชื้อเอช ไอ วี ในผู้ป่วยเอดส์นั้นมักมีการติดเชื้อแบบกระจาย จากการศึกษที่ผ่านมาพบว่าการตรวจฟิล์มเลือดนั้นเป็นประโยชน์ในการวินิจฉัยการติดเชื้อแบบกระจายของเชื้อรา *Histoplasmosis capsulatum*

**วัตถุประสงค์:** เราได้ทำการศึกษาคุณสมบัติในการวินิจฉัยของการใช้การตรวจฟิล์มเลือดในการวินิจฉัยการติดเชื้อแบบกระจายของเชื้อรา *Histoplasmosis capsulatum* และได้คำนวณถึงค่าแสดงคุณสมบัติของการวินิจฉัยของการตรวจฟิล์มเลือดดังกล่าวเราได้เตรียมฟิล์มเลือดย้อมด้วยสี 50 แผ่น จากตัวอย่างเลือด EDTA เหลือจากการวิเคราะห์ของผู้ป่วยติดเชื้อ เอช ไอ วี 50 ราย ในผู้ป่วยรายนี้มี 2 รายที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคฮิสโตพลาสโมซิสได้ส่งฟิล์มเลือดแต่ละแผ่นไปตรวจโดยแพทย์ทางกึ่งวิทยา ณ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**ผลการศึกษา:** จากการศึกษานี้พบความชุกจากการอ่านฟิล์มเลือดของโรคร้อยละ 0 และจากการวินิจฉัยขั้นสุดท้ายร้อยละ 4 ได้ค่าความไวของการตรวจร้อยละ 0, ความจำเพาะร้อยละ 100 และความถูกต้องร้อยละ 96

**สรุป:** เห็นได้ว่าไม่สามารถพบการติดเชื้อได้แม้ว่ามีตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ได้รับยืนยันว่าติดเชื้อและความไวของการทดสอบต่ำมากวิธีการตรวจดังกล่าวจึงไม่สามารถใช้เป็นการตรวจคัดกรองได้อย่างไรก็ตามการตรวจดังกล่าวมีความจำเพาะ และความถูกต้องสูง การตรวจพบเชื้อในแผ่นฟิล์มเลือดจึงไม่อาจใช้เป็นข้อมูลหนึ่งในการวินิจฉัยคัดออกของโรคฮิสโตพลาสโมซิสแบบกระจายในผู้ป่วย

**Background:** *Histoplasmosis capsulatum* is the pathogenic fungi that causes infection worldwide in HIV-infected patients. Histoplasmosis in AIDS usually presents as a disseminated infection. According to previous studies, a peripheral blood smear is one of the useful diagnosis of disseminated histoplasmosis.

**Objective:** Here, we studied the diagnostic property of the peripheral blood smear for diagnosis of disseminated histoplasmosis. We calculated for the diagnostic activity of the blood smear examination in diagnosis of histoplasmosis. We prepared 50 Wright's stain blood smears from 50 leftover EDTA blood samples from 50 HIV-infected patients in King Chulalongkorn Memorial Hospital. Among these 50 cases, 2 cases with the diagnosis of histoplasmosis were included. Each blood smear was sent to the physician in fungal microbiology laboratory, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, for examination.

**Results:** According to our blood smear examination, there was no case of histoplasmosis. The prevalence from blood smear interpretation was 0 % while the real prevalence was 4 %. Concerning the diagnostic activity of blood smear for histoplasmosis, the sensitivity was 0 %, specificity was 100 % and accuracy was 96 %.

**Conclusion:** According to our study, null prevalence of infection was detected although there were also cases with diagnosis of infection in our samples. The sensitivity of

ติดเชื้อ เอช ไอ วี นอกจากนี้รายงานนี้ยังเป็นรายงานแรกของการศึกษาความชุกของโรคอีสโตพลาสโมซิสจากการตรวจแผ่นฟิล์มเลือดในไทย นอกจากนี้เนื่องจากตรวจแผ่นฟิล์มเลือดยังขึ้นกับประสบการณ์ของผู้ตรวจด้วย การตรวจไม่พบในการศึกษานี้อาจเกี่ยวข้องกับประสบการณ์ของผู้ตรวจก็ได้

**คำสำคัญ:** อีสโตพลาสโมซิส, แผ่นฟิล์มเลือด, เอช ไอ วี

the blood smear examination is very poor. Hence, it cannot be used as a screening test. However, the accuracy and specificity of blood smear examination are high, therefore, "no detection of this organism in blood smear" cannot be a good rule out test for disseminated histoplasmosis. Also this is the first report of prevalence study of histoplasmosis in blood smear of HIV seropositive patients in Thailand. Finally, since the microscopic examination depends mostly on the experience of the practitioners, the null prevalence may be due to the experience of our practitioners.

**Key Words:** histoplasmosis, blood smear, HIV

ศรีนครินทร์เวชสาร 2546; 18(1), 27-29 • Srinagarind Med J 2003; 18(1), 27-29

## Introduction

Over the last decade, the incidence of fungal infections has increased dramatically. The human immunodeficiency virus (HIV) epidemic accounts for a large share of this increase. Emerging disease issues in regard to these infections among HIV-infected patients are presently a focus topic in infectious medicine. The infections discussed include candidiasis; the endemic mycoses histoplasmosis, coccidioidomycosis, and blastomycosis; aspergillosis; and penicilliosis.

*Histoplasmosis capsulatum* causes infection worldwide and is the most organism associated with disease in HIV-infected patients<sup>1</sup>. This fungus is typically isolated from soil contaminated with avian or bat excreta, and a number of epidemics among persons without HIV infection have occurred within the recognized area for endemic. However, within that area, great variability has been seen in the incidence of that disease<sup>1-2</sup>.

Histoplasmosis in AIDS usually presents as a disseminated infection<sup>3</sup>. The most common manifestation is fever and weight loss, which occurs in about 75 percent of patients<sup>3</sup>. The diagnosis is usually made by culturing the fungus from blood or other clinical specimens or by histopathologic examination of bone marrow aspirate or biopsy material, lavage fluid, or biopsy material from lung or skin lesions. According to previous studies, a peripheral blood smear is one of the useful diagnosis of disseminated histoplasmosis<sup>3-5</sup>. Here, studied the diagnostic property of the peripheral blood smear for diagnosis of disseminated histoplasmosis.

## Materials and method

We prepared 50 Wright's stain<sup>6</sup> blood smears from 50 leftover EDTA blood samples from 50 HIV-infected patients. Concerning these 50 cases, 2 cases with final clinical diagnosis of histoplasmosis were included (by both biopsy and fungus culture).

Each blood smear was sent to the physician in fungal microbiology laboratory, Department of Medicine, Chulalongkorn University, for examination. All examinations were performed by the same practitioner, the expert in microscopy, to avoid the interobserver variation. At least All microscopic examination was blindly performed by the examiner.

## Results

According to our blood smear examination, there was no case of histoplasmosis. The prevalence from blood smear interpretation was 0 % while the real prevalence was 4 %. Concerning the diagnostic activity of blood smear examination for histoplasmosis, the sensitivity was 0 %, specificity was 100 % and accuracy was 96 % (Table 1).

**Table 1** Diagnostic activity of blood smear examination for detection of disseminated histoplasmosis

Detection of organism in blood smear	Confirmation for histoplasmosis infection	
	Yes	No
Yes	0	0
No	2	48

## Discussion

Histoplasmosis is caused by the dimorphic fungus, *Histoplasma capsulatum*. The situation differs in HIV infection. Progressive disseminated histoplasmosis is a common complication of AIDS in areas where *H. capsulatum* is endemic<sup>1</sup>. Histoplasmosis has been reported in some endemic areas to be the second or third most frequent opportunistic infection in HIV-positive patients. Many causes of histoplasmosis in AIDS have been reported in patients living in parts of the world where the fungus is not endemic. It is assumed that most cases of histoplasmosis in such patients represent reactivation of previously acquired disease, and most patients give a history of residence in an endemic area. Preliminary evidence based on molecular typing of isolates supports this notion that disease patients is due to reactivation.<sup>2</sup> However, the epidemiology of histoplasmosis is not clear-cut<sup>1-2</sup>. Surprisingly, only a few studies concerning histoplasmosis in HIV seropositive patients have been reported<sup>7-9</sup>.

The diagnosis is usually made by culturing the fungus from blood or other clinical specimens. Concerning the blood smear examination, there are some reports of its usefulness as the screening test. Here, we studied the diagnostic property of the peripheral blood smear for diagnosis of disseminated histoplasmosis. According to our study, null prevalence of infection was detected although there were also cases with diagnosis of infection in our samples. The sensitivity of the blood smear examination is very poor. Hence, it cannot be used as a screening test. However, the accuracy and specificity of blood smear examination are high, therefore, no detection of this organism in blood smear cannot be used as supportive evidence in ruling out this disease in differential of HIV infected problem with fever.

Indeed, according to the previous studies, the peripheral blood smear seem to be a useful test for diagnosis of disseminated histoplasmosis. Sarosi and Johnson<sup>4</sup> reported that blood culture are highly useful as is the examination of the bone marrow, peripheral blood smears and the respiratory secretions. Dietrich et al reported that examination of blood smears and bone marrow aspirate may allow early recognition of the disease and permit appropriate treatment with antifungal drugs. Concerning the prevalence of this disease, Casanova-Cardiel and Ruiz-Ordaz<sup>3</sup> reported their experience that the prevalence from blood smear interpretation was 12 % while in our setting was 0 %.

Some limitation of this study should be mentioned. Firstly, since this is only a pilot study, the total subject is few, therefore, generalization must be careful. Due to the

few subjects, the sensitivity from statistical calculation may be low. Secondly, in this study, we selected the subjects from any CD4+ count status. This can result in the low prevalence in our study since the previous reports focused on the patients with advanced disease.

Finally, the microscopic examination depends mostly on the experience of the practitioners. Perhaps, the null prevalence may be due to the experience of our practitioners. Therefore, variations in other setting due to the experience of the microscopist can be expected. Further multi center study with the same quality control for microscopic procedure among the practitioners should be performed.

## Acknowledgement

The authors have to thank all medical personnel who helped in preparation of the blood smear.

## References

1. Wheat LJ, Connolly-Stringfield PA, Baker RL, Curfman MF, et al. Disseminated histoplasmosis in the acquired immune deficiency syndrome: clinical findings, diagnosis and treatment, and review of the literature. *Medicine* 1990; 69:361-74
2. Wheat LJ, Slama TG, Zeckel ML. Histoplasmosis in the acquired immune deficiency syndrome. *Am J Med* 1985; 78:203-10
3. S. Sarosi GA, Johnson PC. Disseminated histoplasmosis in patients with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1992; 14:560-567.
4. Casanova - Cardiel LJ, Ruiz - Ordaz I. Histoplasmosis capsulatum in the peripheral blood of patients with AIDS. Report of 4 cases with an increase of lactate dehydrogenase. *Rev Invest Clin* 1993; 45: 67 - 70
5. Sarosi GA, Johnson PC. Disseminated histoplasmosis in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1992; 14 Suppl 1: S60 - 7
6. Dietrich PY, Bille J, Fontollet C, Regamey C. Disseminated histoplasmosis due to *Histoplasma capsulatum* in a patient with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Schweiz Med Wochenschr* 1987; 117: 1289 - 96
7. นฤดี ไก่โคศวรรย์. การตรวจจสอบพื้นฐานทางโลหิตวิทยา. ใน: นพพรณ จารุรักษ์, กฤตยา สุธีโสภณ, ชัยพร บุญเฉลิมวิเชียร, บรรณาธิการ. *พยาธิวิทยาคลินิก*. กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544; 29 - 55
8. Nittayananta V, Jealae S, Chungpanich S. Oral lesions in Thai heterosexual AIDS patients: a preliminary study. *Br Dent J* 1997; 182:219-21
9. Nittayananta W, Chungpanich S. Oral lesions in a group of Thai people with AIDS. *Oral Dis* 1997; 3:541-5
10. Vithayasai P, Vithayasai V. Clinical manifestations of 174 AIDS cases in Maharaj Nakorn Chaing Mai-Hospital. *J Dermatol* 1993 Jul;20(7):389-93

