

Evaluación de una nueva técnica comercializada (*Candida albicans* IFA IgG) para el diagnóstico de la candidiasis invasiva

María Dolores Moragues^a, Natalia Ortiz^b, José Ramón Iruretagoyena^c, Juan Carlos García-Ruiz^d, Elena Amutio^d, Almudena Rojas^e, Joaquín Mendoza^e, Guillermo Quindós^b y José Pontón-San Emeterio^b

^aDepartamento de Enfermería I. ^bDepartamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco. Bilbao. Vizcaya. ^cUnidad de Cuidados Intensivos. ^dServicio de Hematología. Hospital de Cruces. Baracaldo. Vizcaya. ^eLaboratorios Vircell SL. Santa Fé. Granada. España.

INTRODUCCIÓN. Se comparan dos pruebas para detectar anticuerpos antimicelio en pacientes con candidiasis invasiva: una nueva técnica comercializada (*Candida albicans* IFA IgG) y la técnica de inmunofluorescencia indirecta tradicionalmente empleada para la detección de anticuerpos contra la fase micelial de *C. albicans* (anticuerpos antimicelio).

MÉTODOS. Mediante dos técnicas de inmunofluorescencia indirecta se estudiaron retrospectivamente un total de 172 sueros de 51 pacientes clasificados en dos grupos: el grupo I incluía 123 sueros de 32 pacientes con candidiasis invasiva y el grupo II, utilizado como control, comprendía 49 sueros de 19 pacientes sin evidencia de infección por *Candida*.

RESULTADOS. El 84,4% de los pacientes con candidiasis invasiva (grupo I) presentaron títulos de anticuerpos antimicelio $\geq 1:160$ con la prueba *Candida albicans* IFA IgG, mientras que el 78,1% lo hicieron con la técnica tradicional. Ambas técnicas presentaron una alta correlación al ser comparadas entre sí ($R^2 = 0,9512$ por pacientes; $R^2 = 0,8986$ por sueros). Utilizando un título de corte de anticuerpos antimicelio $\geq 1:160$ para el diagnóstico de la candidiasis invasiva, la prueba *Candida albicans* IFA IgG presentó una sensibilidad del 84,4% y una especificidad del 94,7%, mientras que la técnica tradicional presentó una sensibilidad del 78,1% y una especificidad del 100%. **CONCLUSIÓN.** La prueba comercializada *Candida albicans* IFA IgG es muy similar a la prueba tradicionalmente empleada para la detección de anticuerpos antimicelio, permitiendo un diagnóstico más rápido y sencillo de la candidiasis invasiva en los laboratorios de microbiología hospitalarios.

Palabras clave: Candidiasis invasiva. Diagnóstico serológico. Anticuerpos antimicelio. *Candida albicans* IFA IgG. *C. albicans*.

Correspondencia: Dr. J. Pontón-San Emeterio. Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco. Apartado 699. 48080 Bilbao. Vizcaya. España. Correo electrónico: oipposaj@g.ehu.es

Manuscrito recibido el 29-4-2003; aceptado el 1-7-2003.

00

Evaluation of a new commercial test (*Candida albicans* IFA IgG) for the serodiagnosis of invasive candidiasis

INTRODUCTION. Two tests for the detection of antibodies to *Candida albicans* germ tubes in patients with invasive candidiasis were compared: a new commercially available test (*Candida albicans* IFA IgG) and the indirect immunofluorescence test generally used for this purpose.

METHODS. With the use of two indirect immunofluorescence tests, retrospective study was done on 172 sera from 51 patients classified into two groups: Group I included 123 serum samples from 32 patients with invasive candidiasis, and Group II, the control, included 49 serum samples from 19 patients with no evidence of *Candida* infection.

RESULTS. In Group I, 84% of patients presented anti-germ tube antibody titers $\geq 1:160$ by the *Candida albicans* IFA IgG test and 78.1% of patients were positive by the generally used test. There was a high correlation between the two tests ($R^2 = 0.9512$ by patients; $R^2 = 0.8986$ by sera). When a titer value of $\geq 1:160$ was used as cutoff, the *Candida albicans* IFA IgG test showed a sensitivity of 84.4% and a specificity of 94.7%, whereas the traditional test showed a sensitivity of 78.1% and a specificity of 100%.

CONCLUSIONS. The commercially available *Candida albicans* IFA IgG test is similar to the test generally used for the detection of antibodies to *C. albicans* germ tubes and provides faster and easier diagnosis of invasive candidiasis in the clinical microbiology laboratory.

Key words: Invasive candidiasis. Anti-germ tube antibodies. *Candida albicans* IFA IgG. Serodiagnosis. *C. albicans*.

Introducción

Candida albicans y, en menor medida, otras especies del género *Candida*, son colonizadores habituales de la piel y mucosas del cuerpo humano que pueden causar un amplio rango de infecciones superficiales e invasivas. Las candidiasis mucocutáneas son las más frecuentes y no suelen presentar problemas diagnósticos y terapéuticos. Sin embargo, la candidiasis invasiva constituye un problema creciente especialmente en pacientes inmuno-

deprimidos¹, ya que su diagnóstico es difícil debido a la ausencia de síntomas patognomónicos de la enfermedad y a la dificultad de aislar el hongo en los hemocultivos. Esta dificultad diagnóstica puede hacer que el tratamiento antifúngico se inicie tarde, lo cual incrementa la morbilidad y mortalidad en estos pacientes^{2,3}.

Además del cultivo, las técnicas actuales para el diagnóstico de la candidiasis invasiva incluyen los métodos inmunológicos (serología) y la detección de componentes no antigenicos estructurales o metabólicos como el ADN, el (1-3)- β -D-glucano y el D-arabinitol⁴. Sin embargo, todas las técnicas empleadas adolecen de limitaciones y ninguna se puede utilizar con fiabilidad de forma habitual en los laboratorios de microbiología clínica⁵.

Nuestro grupo ha identificado y caracterizado un antígeno específico de la fase micelial de *C. albicans*^{6,7} que ha sido la base para el desarrollo de una técnica que detecta anticuerpos dirigidos contra antígenos expresados en el micelio de *C. albicans* (fig. 1). La detección de anticuerpos antimicelio posee utilidad diagnóstica porque permite solucionar una de las grandes dificultades de la detección de anticuerpos en pacientes con candidiasis invasiva: discriminar entre los que padecen una infección invasiva y los que solamente están colonizados por *Candida*⁴. Esta técnica ha obtenido buenos resultados diagnósticos de sensibilidad (77-89%) y especificidad (91-100%) en pacientes inmunodeprimidos como inmunocompetentes⁸⁻¹², que han sido confirmados por otros grupos¹³⁻¹⁷.

Además de su interés diagnóstico, la detección de anticuerpos antimicelio tiene utilidad pronóstica y permite el seguimiento de la eficacia terapéutica, puesto que en los pacientes que responden al tratamiento antifúngico se detectan títulos decrecientes de anticuerpos que, finalmente, llegan a desaparecer^{11,12,18}. Aunque la técnica detecta anticuerpos contra antígenos expresados en la fase micelial de *C. albicans*, también es positiva en los pacientes con infección invasiva por cualquiera de los dos serotipos de *C. albicans* y en los enfermos con candidiasis invasiva por *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* y *C. dubliniensis*^{11,18-20}.

La dificultad para preparar los reactivos necesarios para la detección de anticuerpos antimicelio ha limitado la realización de los estudios sobre su utilidad diagnóstica a los laboratorios de investigación clínica. Sin embargo, una prueba diagnóstica basada en esta técnica, *Candida albicans* IFA IgG, acaba de ser comercializada por Laboratorios Vircell (Granada, España). El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la utilidad diagnóstica de la prueba *Candida albicans* IFA IgG y compararla con la técnica tradicionalmente empleada para la detección de anticuerpos antimicelio en pacientes con candidiasis invasiva.

Métodos

Sueros

Se estudiaron retrospectivamente un total de 172 sueros de 51 pacientes ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos o en el Servicio de Hematología del Hospital de Cruces (Baracaldo, Vizcaya, España) que se clasificaron en dos grupos:

Grupo I. Pacientes con candidiasis invasiva demostrada por histología, presentar uno o más hemocultivos positivos para la misma especie de *Candida*, cultivo de muestras obtenidas por biopsia o autopsia u otros criterios descritos por León et al²¹. El grupo I lo formaban 123 sueros de 32 pacientes con candidiasis invasiva. En la mayor parte de los pacientes (93,7%), la enfermedad se diagnosticó mediante hemocultivo. Veintinueve pacientes se encontraban ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI) y 3 pacientes en el servicio de hematología (tabla 1).

Grupo II o grupo control. Pacientes con factores de riesgo similares a los del grupo I que no presentaron cultivos positivos significativos para las especies del género *Candida*. El grupo II estaba formado por 49 sueros de 19 pacientes sin evidencia de infección por *Candida*. Quince pacientes se encontraban ingresados en la UCI y 4 pacientes en el servicio de hematología (tabla 2).

Detección de anticuerpos antimicelio

Se llevó a cabo utilizando la técnica tradicionalmente empleada para la detección de anticuerpos antimicelio y la prueba comercializada *Candida albicans* IFA IgG (Laboratorios Vircell, Granada).

La técnica tradicional es la descrita por Quindós et al⁸ y se utilizó la cepa 3153 de *C. albicans* serotipo A, procedente de la National Collection of Pathogenic Fungi de Bristol (Inglaterra). Esta cepa se creció durante 48 h a 24 °C en placas de agar de glucosado de Sabouraud y posteriormente en medio TC199 (Sigma, USA) a 24 °C con agitación durante 18 h. Las levaduras así obtenidas se inocularon en medio TC199 precalentado a 37 °C, obteniéndose al cabo de 4 h de incubación a 37 °C con agitación, los micelios que se utilizaban para la preparación de los portaobjetos para inmunofluorescencia.

El proceso de adsorción de los sueros consistió en una única incubación de 2 h a temperatura ambiente, mezclando un volumen de suero con 19 volúmenes de una suspensión de levaduras inviables por calentamiento a una concentración de 10¹⁰ levaduras/ml. Tras la adsorción, los sueros se centrifugaron a 700 g durante 5 min y 10 µl del sobrenadante o diluciones seriadas de éste en PBS-TA (PBS con Tween 20 al 0,05% y Azul de Evans al 0,5%), se depositaban en cada pocillo de los portaobjetos preparados con tubos germinales de *C. albicans*. En cada prueba se realizaron controles negativos sustituyendo el suero del paciente por tampón PBS-TA. Tras ser incubados durante 30 min a 37 °C en una cámara húmeda y lavados con PBS con agitación durante 20 min, se incubaron nuevamente, en iguales condiciones, con anticuerpos antiinmunoglobulina total humana marcados con fluoresceína (Nordic Immunology, Tilburg, Holanda) a una dilución de 1:160. A continuación, se repitieron los procesos de lavado y secado, y tras ser montados con cubreobjetos con una solución tamponada de glicerina, los portaobjetos se observaron en un microscopio de fluorescencia (Nikon Optiphot). Se consideró positivo el resultado cuando aparecían títulos de anticuerpos antimicelio en dilución mayor o igual a 1:160.

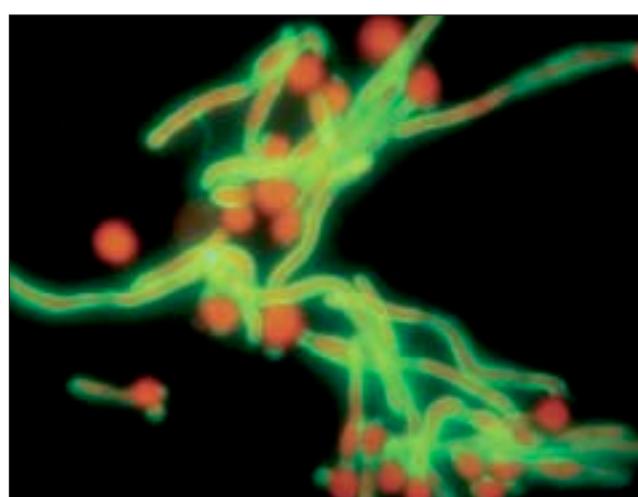


Figura 1. Inmunofluorescencia indirecta que muestra la existencia de anticuerpos antimicelio de *C. albicans* en un paciente con candidiasis invasiva.

TABLA 1. Características clínicas, micológicas y serológicas de los pacientes del grupo I

Paciente (n.º de sueros)	Sexo	Edad	Factor predisponente	Lugar de aislamiento	Especie	Título antimicelio (máximo)	
						Técnica tradicional	<i>Candida albicans</i> IFA IgG
1 (3)	V	79	Leucemia mieloide aguda	Sangre Absceso cutáneo	<i>C. albicans</i>	20.480	40.960
2 (10)	V	69	Leucemia linfoblástica aguda	Absceso hepático Frotis faringeo	<i>C. albicans</i>	20.480	20.480
3 (5)	V	76	Carcinoma vesical Cirugía	Sangre	<i>C. albicans</i>	20.480	20.480
4 (9)	M	73	Síndrome de Guillain-Barré	Sangre	<i>C. albicans</i>	20.480	20.480
5 (2)	V	37	Politraumatizado	Sangre	<i>C. albicans</i>	10.240	5.120
6 (13)	V	37	Politraumatizado Insuficiencia renal	Sangre Catéter venoso	<i>C. albicans</i>	5.120	5.120
7 (2)	V	57	Gran quemado	Sangre	<i>C. albicans</i>	2.560	2.560
8 (1)	M	78	Pancreatitis	Sangre	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i>	2.560	1.280
9 (1)	V	23	UDVP* Insuficiencia aórtica	Absceso a válvula protésica	<i>C. albicans</i>	1.280	5.120
10 (9)	M	24	Cirugía abdominal Enfermedad de Crohn	Sangre	<i>C. albicans</i>	1.280	1.280
11 (2)	V	65	Cirrosis Neumonía	Sangre Muestra respiratoria	<i>C. albicans</i>	1.280	1.280
12 (2)	V	67	Cirugía abdominal	Sangre	<i>C. albicans</i>	1.280	1.280
13 (4)	V	37	Politraumatizado	Sangre	<i>C. albicans</i>	640	1.280
14 (2)	V	52	Cirugía de neoplasia de colon	Sangre	<i>C. albicans</i>	320	640
15 (6)	V	36	Pancreatitis	Sangre	<i>C. albicans</i>	320	640
16 (2)	M	31	Cirugía abdominal Colitis ulcerosa	Sangre Orina	<i>C. albicans</i> <i>C. no albicans</i>	320	640
17 (3)	M	18	Cirugía abdominal Colitis ulcerosa	Sangre	<i>C. albicans</i>	320	320
18 (1)	M	36	Gran quemado	Sangre	<i>C. albicans</i>	160	320
19 (1)	V	71	Cirugía abdominal	Sangre	<i>C. albicans</i>	160	160
20 (4)	M	56	Neoplasia abdominal	Sangre	<i>C. albicans</i>	0	20
21 (3)	V	54	Trasplante renal Inmunosupresión	Sangre	<i>C. albicans</i>	0	20
22 (3)	M	18	TAPH LNH*	Sangre	<i>C. parapsilosis</i>	1.280	5.120
23 (3)	M	75	Cirugía abdominal	Sangre	<i>C. parapsilosis</i>	320	640
24 (4)	M	29	Asma	Sangre Orina	<i>C. parapsilosis</i> <i>C. albicans</i>	320	320
25 (1)	V	69	Artritis reumatoidea Inmunosupresión	Sangre Líquido articular	<i>C. parapsilosis</i>	320	320
26 (2)	M	65	Neumonía	Sangre	<i>C. parapsilosis</i>	40	80
27 (10)	V	31	Gran quemado	Sangre	<i>C. parapsilosis</i>	0	20
28 (10)	V	68	Cirugía cardíaca Mediastinitis	Sangre	<i>C. tropicalis</i>	80	160
29 (2)	M	48	Nefrectomía Cirugía abdominal	Sangre	<i>C. tropicalis</i>	80	160
30 (1)	M	35	UDVP* Endocarditis de válvula tricúspide	Sangre	<i>C. dubliniensis</i>	320	320
31 (1)	V	52	Cirugía abdominal Colitis ulcerosa	Sangre	<i>C. guilliermondii</i>	0	20
32 (1)	V	47	Neumonía	Absceso pulmonar	<i>C. utilis</i>	1.280	1.280

*TAPH LNH: trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos por linfoma no hodgkiniano.
UDVP: usuario de drogas por vía parenteral.

La detección de anticuerpos antimicelio mediante la prueba *Candida albicans* IFA IgG se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante. Brevemente, los sueros que se iban a estudiar se diluyeron a 1:4 con PBS y se incubaron con el adsorbente para eliminar los anticuerpos antimano durante 1 h a temperatura ambiente con agitación suave. A continuación, los sueros se centrifugaron a 700 g durante 5 min y 20 µl del sobrenadante o de diluciones seriadas del mismo en PBS se depositaron en cada pocillo de los portaobjetos. Tras ser incubados durante 30 min a 37 °C en cámara húmeda y lavados dos veces con PBS

durante 5 min, los portaobjetos se dejaron secar y se incubaron con 20 µl de la solución de anti-IgG humana marcada con fluoresceína durante 30 min a 37 °C en cámara húmeda. Los procesos de lavado y secado se repitieron y, tras ser montados con cubreobjetos utilizando un medio de montaje, los portaobjetos se observaron en un microscopio de fluorescencia (Nikon Optiphot). Se consideró positivo el resultado cuando aparecían títulos de anticuerpos antimicelio en dilución mayor o igual a 1:160.

TABLA 2. Características clínicas, micológicas y serológicas de los pacientes del grupo II

Paciente (n.º de sueros)	Sexo	Edad	Factor predisponente	Lugar de aislamiento	Especie	Título antimicelio (máximo)	
						Técnica tradicional	<i>Candida albicans</i> IFA IgG
33 (2)	V	53	Cirugía cardíaca	Prótesis valvular	<i>Aspergillus</i> sp.	40	80
34 (1)	V	54	Cirugía cardíaca	Prótesis valvular	<i>Aspergillus</i> sp.	40	40
35 (3)	V	73	Cirugía cardíaca	Pericardio	<i>Aspergillus</i> sp.	20	80
36 (2)	M	44	Leucemia mieloblástica aguda	Pulmón (necropsia)	<i>Aspergillus</i> sp.	20	40
37 (1)	V	72	Cirugía cardíaca	Prótesis valvular	<i>Aspergillus</i> sp.	0	20
38 (6)	V	59	Fallo multiorgánico	Sangre	<i>E. coli</i>	0	20
39 (3)	V	71	Cirugía abdominal	Muestra respiratoria Drenaje abdominal Drenaje abdominal	<i>P. aeruginosa</i> <i>E. coli</i> <i>E. faecalis</i>	0	20
40 (2)	V	72	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	Muestra respiratoria Orina	<i>H. influenzae</i> <i>A. baumannii</i> <i>B. fragilis</i> <i>A. baumannii</i>	80	80
41 (2)	V	28	Trauma craneal	Sangre Catéter arterial	<i>A. baumannii</i> <i>E. faecalis</i> <i>S. epidermidis</i>	80	80
42 (2)	V	42	Politraumatismo	Sangre Muestra respiratoria	<i>A. baumannii</i>	40	80
43 (3)	V	66	Cirugía abdominal	Líquido pericárdico Sangre Catéter arterial	<i>A. baumannii</i> <i>Corynebacterium</i> sp.	0	20
44 (5)	V	63	Neumonía	Sangre Muestra respiratoria Orina	<i>S. pneumoniae</i> <i>E. faecalis</i>	40	40
45 (5)	V	72	Neumonía	Muestra respiratoria Catéter venoso Muestra respiratoria	<i>H. influenzae</i> <i>A. baumannii</i>	80	160
46 (2)	V	21	Cirugía cardíaca	Muestra respiratoria Catéter venoso	<i>A. baumannii</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. epidermidis</i>	40	80
47 (2)	M	39	Leucemia mieloblástica aguda	Sangre	<i>P. aeruginosa</i>	80	80
48 (2)	V	19	Trauma craneal	Muestra respiratoria	<i>P. aeruginosa</i>	80	80
49 (2)	M	73	Pancreatitis	No	No	80	80
50 (2)	M	30	Anemia aplásica grave	No	No	40	20
51 (2)	V	17	Anemia aplásica grave	No	No	20	0

Estudio estadístico

Los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo de la prueba positiva y valor predictivo de la prueba negativa se calcularon según Kozinn et al.²². El coeficiente de correlación lineal para los valores obtenidos mediante ambas técnicas se calculó con el programa Microsoft Excel 2001 (Microsoft Inc., Estados Unidos).

Resultados

El 40,7% (50 de 123) de los sueros del grupo I mostraron el mismo título de anticuerpos antimicelio con ambas pruebas, mientras que el 39,9% (49 de 123) se diferenciaban en una dilución. Los sueros con diferencias de dos diluciones constituyeron el 12,2% (15 de 123), mientras que aquellos con variaciones de tres y cuatro diluciones en el título representaron el 4,1% (5 de 123) y el 3,3% (4 de 123), respectivamente.

Sólo tres de los 49 sueros del grupo II (6,1%) mostraron un título de anticuerpos antimicelio mayor o igual a 1:160. Estos tres sueros correspondían a un mismo paciente y su título máximo fue 1:160 por la prueba *Candida albicans* IFA IgG, mientras que con la técnica tradicional fue 1:80. El

estudio comparativo de los sueros por ambas técnicas, mostró que de los 49 sueros del grupo control, el 22,4% (11 de 49) daba resultados idénticos con ambas técnicas, y el 69,3% (34 de 49) solamente se diferenciaban por una dilución.

Comparando los resultados obtenidos para los 172 sueros estudiados por ambas técnicas, se pudo comprobar que el 83,8% mostraron resultados idénticos o con sólo una dilución de diferencia entre ellos. La comparación de los resultados obtenidos por ambas pruebas en todos los sueros estudiados presentó una alta correlación ($R^2 = 0,8986$).

Veintisiete pacientes con candidiasis invasiva (84,4%) presentaron títulos de anticuerpos antimicelio mayor o igual a 1:160 con la prueba *Candida albicans* IFA IgG, mientras que 25 pacientes (78,1%) lo hicieron con la técnica tradicional. Las dos pruebas dieron un resultado falsamente negativo (título de anticuerpos antimicelio < 1:160) conjuntamente en 5 pacientes con candidiasis invasiva. Once de los 32 pacientes del grupo I sufrieron una candidiasis invasiva por especies del género *Candida* distintas de *C. albicans* (seis por *C. parapsilosis*, dos por *C. tropicalis*, uno por *C. dubliniensis*, uno por

C. guilliermondii, y uno por *C. utilis*). Las dos pruebas detectaron anticuerpos antimicelio con títulos mayor o igual a 1:160 en siete de estos pacientes y en tres (dos con infección por *C. parapsilosis* y uno por *C. guilliermondii*) se detectaron títulos de anticuerpos antimicelio inferiores a 1:160 con las dos técnicas. En los 2 pacientes con aislamientos de *C. tropicalis* en hemocultivos se detectó un título de anticuerpos antimicelio de 1:160 con la prueba *Candida albicans* IFA IgG y de 1:80 con la técnica tradicional (tabla 1).

Un paciente del grupo II presentó un título de anticuerpos antimicelio mayor o igual a 1:160 con la prueba *Candida albicans* IFA IgG, mientras que ninguno de los pacientes del grupo II presentó un título de anticuerpos antimicelio mayor o igual a 1:160 con la técnica tradicional (tabla 2). La comparación de los resultados obtenidos por las dos pruebas en todos los pacientes estudiados presentó una alta correlación ($R^2 = 0,9512$).

Una comparación de la evolución de los títulos de anticuerpos antimicelio por las dos pruebas durante el desarrollo de una candidemia por *C. albicans* se observa en el paciente de la figura 2. Se trataba de un varón de 36 años con pancreatitis que fue intervenido por presentar una hemorragia peripancreática y en el que se aisló *C. albicans* en el urocultivo el día 18 de ingreso y en el hemocultivo el día 22, iniciándose tratamiento con fluconazol. Serológicamente, el paciente no presentó inicialmente anticuerpos antimicelio, pero coincidiendo con el aislamiento de *C. albicans* en orina se apreció una positivización de la respuesta de anticuerpos antimicelio por las dos pruebas (títulos $\geq 1:160$), que se incrementó a títulos de 1:640 con la prueba *Candida albicans* IFA IgG y 1:320 con la técnica tradicional durante el diagnóstico de la candidemia. Coincidiendo con el tratamiento con fluconazol se observó un descenso en los títulos de anticuerpos antimicelio por las dos pruebas.

Cuando se analizó la utilidad de ambas pruebas para el diagnóstico de la candidiasis invasiva con un título de corte de anticuerpos antimicelio mayor o igual a 1:160, la prueba *Candida albicans* IFA IgG presentó una sensibilidad del 84,4%, una especificidad del 94,7%, un valor predictivo positivo del 96,4% y un valor predictivo negativo del 78,3%, mientras que la técnica tradicional presentó una sensibilidad del 78,1%, una especificidad del 100%, un valor predictivo positivo del 100% y un valor predictivo negativo del 73,1% (tabla 3). La utilización de un título de corte de anticuerpos antimicelio mayor o igual a 1:320 no mejoró globalmente estos resultados, ya que, aunque aumentaron la especificidad y el valor predictivo positivo, disminuyeron la sensibilidad y el valor predictivo negativo (tabla 3).

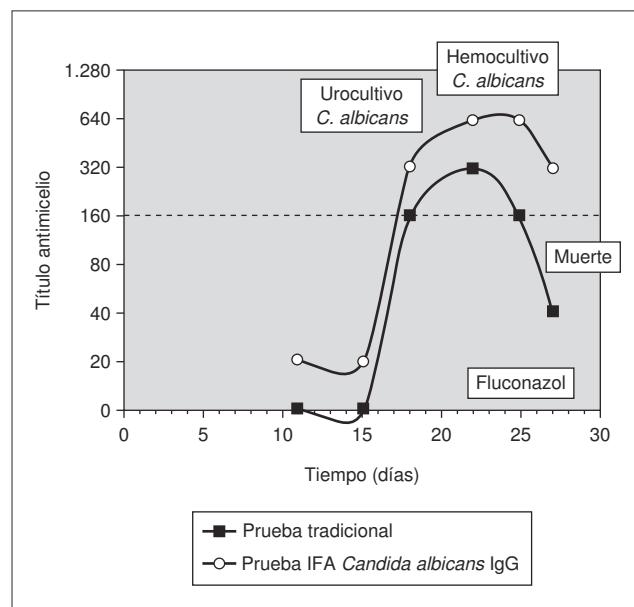


Figura 2. Evolución de los títulos de anticuerpos antimicelio de *C. albicans* mediante la prueba tradicional y la prueba IFA *Candida albicans* IgG en un paciente con candidemia por *C. albicans*.

Discusión

La detección de anticuerpos en pacientes con candidiasis invasiva presenta generalmente problemas de sensibilidad en pacientes inmunodeficientes y de especificidad al ser difícil diferenciar serológicamente la invasión tisular de una simple colonización. Para resolver estos problemas debe utilizarse una técnica lo suficientemente sensible para detectar los títulos bajos de anticuerpos que se producen en algunos pacientes inmunodeficientes y detectarse anticuerpos frente a antígenos que se expresen durante la invasión tisular por *Candida*. La prueba de inmunofluorescencia indirecta desarrollada en nuestro laboratorio para detectar anticuerpos antimicelio de *C. albicans* cumple ambos requisitos, porque detecta títulos de anticuerpos de utilidad diagnóstica en pacientes inmunodeficientes^{9,11,13} y los anticuerpos que detecta están dirigidos contra antígenos específicos de la superficie de la pared celular de la fase micelial de *C. albicans*, que es la fase morfológica del hongo que se induce fundamentalmente durante la invasión tisular²³.

Hasta el momento, la detección de anticuerpos antimicelio se ha visto limitada a los laboratorios de investigación

TABLA 3. Comparación entre los porcentajes de sensibilidad, especificidad y valores predictivos obtenidos mediante la prueba *Candida albicans* IFA IgG y la técnica tradicional para la detección de anticuerpos antimicelio

	Título de corte $\geq 1:160$		Título de corte $\geq 1:320$	
	<i>Candida albicans</i> IFA IgG	Técnica tradicional	<i>Candida albicans</i> IFA IgG	Técnica tradicional
Sensibilidad (%)	84,4	78,1	75,0	68,7
Especificidad (%)	94,7	100,0	100,0	100,0
Valor predictivo de la prueba positiva (%)	96,4	100,0	100,0	100,0
Valor predictivo de la prueba negativa (%)	78,3	73,1	69,2	48,7

clínica por la ausencia de sistemas comercializados que faciliten su realización. Un intento de correlacionar la detección de anticuerpos antimicelio con la prueba comercializada *Candida* Spot-IF (bioMérieux, Lyon, Francia) que detecta anticuerpos contra antígenos presentes en la fase levaduriforme de *C. albicans* resultó de escaso interés diagnóstico por su baja especificidad y sensibilidad¹⁸. En el presente trabajo, se ha comparado la utilidad de la detección de anticuerpos antimicelio por la prueba tradicional con una prueba comercializada que también detecta anticuerpos por inmunofluorescencia indirecta contra la fase micelial de *C. albicans*. Como era de esperar, ambas técnicas detectaron anticuerpos antimicelio en un porcentaje similar de pacientes con candidiasis invasiva, observándose una alta correlación entre ambas y una evolución también muy similar de los títulos en los pacientes. Ambas técnicas dieron un resultado positivo (título ≥ 1:160) 4 días antes del diagnóstico por hemocultivo en un paciente con candidemia por *C. albicans*. En general, la detección de anticuerpos antimicelio mediante la prueba *Candida albicans* IFA IgG mejoraba ligeramente la sensibilidad diagnóstica de la prueba respecto de la prueba tradicional (84,5% frente a 78,1%), pero disminuía ligeramente la especificidad (94,7% frente a 100%). De hecho, la prueba *Candida albicans* IFA IgG fue positiva en los 2 pacientes con aislamientos de *C. tropicalis* en hemocultivos, mientras que la técnica estándar fue negativa. Parece probable que estas pequeñas diferencias se deban a ligeras variaciones en el método de adsorción de los sueros, diferencias que ya se han observado en trabajos anteriores¹⁰.

Los valores alcanzados con la detección de anticuerpos antimicelio con las dos pruebas utilizadas en este trabajo son similares a los obtenidos por nuestro grupo en trabajos anteriores (77,8-100% de sensibilidad y 96,8-100% de especificidad)⁸⁻¹² y a los obtenidos por otros grupos en pacientes críticos (UCI), transplantados de médula ósea o infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)¹³⁻¹⁶. Los resultados presentados en el presente estudio demuestran que la prueba *Candida albicans* IFA IgG es muy similar y obtiene resultados semejantes a la prueba estándar desarrollada para la detección de anticuerpos antimicelio lo que, dada su reciente comercialización, hace posible su utilización en los laboratorios de microbiología hospitalarios. La prueba *Candida albicans* IFA IgG es más rápida que la tradicional (2 h frente a 4 h) y más sencilla de realizar en laboratorios que ya dispongan de la técnica de inmunofluorescencia indirecta para otros fines diagnósticos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con los proyectos 9/UPV 0093.327-13550/2001 de la Universidad del País Vasco C03/10 del Fondo de Investigación Sanitaria e IE019, subproyecto Diamolfun, del Departamento de Industria, Comercio y Turismo del Gobierno Vasco. Los autores desean agradecer al Dr. Ricardo Salesa el envío del suero correspondiente al paciente con candidemia por *C. dubliniensis*.

Bibliografía

- García Ruiz JC, Pontón J. Infecciones fúngicas invasivas en pacientes con hemopatías malignas: una aproximación clínica. *Med Clin (Barc)* 2000;115:305-12.
- Lew MA. Diagnosis of systemic *Candida* infections. *Ann Rev Microbiol* 1989;40:87-97.
- Pittet D, Tarara D, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infection in critically ill patients. Excess length stay, extra costs, and attributable mortality. *JAMA* 1994;271:1598-601.
- Pontón J, Moragues MD, Quindós G. Non-culture based diagnostics. En: Calderone R, editor. *Candida* and candidiasis. Washington: American Society for Microbiology, 2001; p. 395-425.
- Pontón J. Diagnóstico microbiológico de las micosis. *Rev Iberoam Micol* 2002;19:25-9.
- Pontón J, Jones JM. Analysis of cell wall extracts of *Candida albicans* by SDS-polyacrylamide electrophoresis and Western blot techniques. *Infect Immun* 1986;53:565-72.
- Pontón J, Jones JM. Identification of two germ tube specific cell wall antigens of *Candida albicans*. *Infect Immun* 1986;54:864-8.
- Quindós G, Pontón J, Cisterna R. Detection of antibodies to *Candida albicans* germ-tubes in the serodiagnosis of systemic candidosis. *Eur J Clin Microbiol* 1987;6:142-6.
- Quindós G, Pontón J, Cisterna R, Mackenzie DWR. Value of detection of antibodies to *Candida albicans* germ tube in the diagnosis of systemic candidosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990;9:178-83.
- Pontón J, Quindós G, Arilla MC, Mackenzie DWR. Simplified adsorption method for detection of antibodies to *Candida albicans* germ tubes. *J Clin Microbiol* 1994;32:217-9.
- García-Ruiz JC, Arilla MC, Regúlez P, Quindós G, Alvarez A, Pontón J. Detection of antibodies to *Candida albicans* germ tubes for the diagnosis and therapeutic monitoring of invasive candidiasis in patients with hematologic malignancies. *J Clin Microbiol* 1997;35:3284-7.
- Iruretagoyena JR, Regúlez P, Quindós G, Pontón J. Antibodies to *Candida albicans* germ tubes in two intensive care patients with invasive candidiasis. *Rev Iberoam Micol* 2000;17:93-6.
- Villalba R, González AI, Linares MJ, Casal M, Torres A. Detection of antibodies to *Candida albicans* germ tubes as a possible aid in diagnosing systemic candidiasis in bone marrow transplant patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993;12:347-9.
- Torres-Rodríguez JM, Madrenys-Brunet N, Nolla-Salas J, Carceller A, Tur C. Candiduria in non-neutropenic critically-ill surgical patients. Detection of IgA, IgG and IgM antibodies to *Candida albicans* by germ tube immunofluorescence. *Mycoses* 1997;40:439-44.
- Linares MJ, Javier MR, Villanueva JL, Solís F, Torre-Cisneros J, Rodríguez F, et al. Detection of antibodies to *Candida albicans* germ tubes in heroin addicts with systemic candidiasis. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:218-26.
- Ibáñez-Nolla J, Torres-Rodríguez JM, Nolla M, León MA, Méndez R, Soria G, et al. The utility of serology in diagnosing candidosis in non-neutropenic critically ill patients. *Mycoses* 2001;44:47-53.
- Dorko E, Jenca A, Pilipcinec E, Tkacikova L. Detection of anti-*Candida* antibodies by the indirect immunofluorescence assay in patients with cancer in the orofacial region. *Folia Microbiol (Praha)* 2002;47:732-6.
- Regúlez P, Arilla MC, García Ruiz JC, Moragues MD, Quindós G, Pontón J. Estudio comparativo de dos técnicas para el diagnóstico de la candidiasis invasiva. *Enferm Infect Microbiol Clin* 1995;13:229-35.
- Bikandi J, San Millán R, Regúlez P, Moragues MD, Quindós G, Pontón J. Detection of antibodies to *Candida albicans* germ tubes during experimental infections by different *Candida* species. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998;5:369-74.
- Salesa R, Moragues MD, Sota R, Pemán J, Quindós G, Pontón J. Fungemia by *Candida dubliniensis* in a user of intravenous cocaine. *Rev Iberoam Micol* 2001;18:42-4.
- León MA, Torres C, Díaz RM, Soria G, Nolla M. Candidosis en UCI. Nueva estrategia diagnóstica para un tratamiento precoz en pacientes en estado crítico. *Rev Iberoam Micol* 1993;10(Supl 1):28-31.
- Kozinn PJ, Taschdjian CL, Goldberg PK, Protzmann WP, MacKenzie DW, Remington JS, et al. Efficiency of serologic tests in the diagnosis of systemic candidiasis. *Am J Clin Pathol* 1978;70:893-8.
- Odds FC. *Candida* and candidosis. 2nd ed. Londres: Baillière Tindall, 1980.