

CRITERIOS PARA EL DIAGNOSTICO DE ASPERGILOSIS Y CANDIDOSIS SISTEMICA

por Conchita Toriello **,
Fernando Rébora Gutiérrez ***,
María Luisa Díaz Gómez ***y
María Lucía Taylor **

CRITERIA FOR THE DIAGNOSIS OF ASPERGILLOSIS AND SYSTEMIC CANDIDOSIS

SUMMARY

In order to help the diagnosis of aspergillosis and systemic candidosis, 253 cases of patients with respiratory illnesses were studied by immunological tests and based on the results, are suggested the following criteria for their diagnosis: patient's clinical characteristics, serial positive cultures for biological specimens, suggestive histopathology (fungi in tissue), serial immunological tests with high titers and similar results in precipitin, agglutinin and complement fixation tests.

RESUMEN

Con objeto de ayudar al diagnóstico de aspergilosis y candidosis sistémica, se estudiaron 253 casos de pacientes con afecciones respiratorias por medio de pruebas inmunológicas. Basados en los resultados, se sugiere el siguiente criterio para su diagnóstico: características clínicas del paciente, cultivos seriados positivos de muestras biológicas, histopatología sugestiva (presencia del hongo en tejido), pruebas inmunológicas seriadas con títulos elevados y resultados similares en precipitinas, aglutininas y reacción de fijación de complemento.

INTRODUCCION

En esta época de aplicación indiscriminada de antibióticos, corticoesteroides y adelantos modernos en cirugía (transplantes, operaciones de corazón abierto, etc.) se ha observado un aumento a la incidencia de micosis oportunistas dando por resultado enfermedades sistémicas diseminadas (Rippon, 1982). Entre ellas se tiene la aspergilosis y la candidosis, que han cobrado gran importancia en pacientes hospitalarios debilitados. Debido a que *Candida* es un comensal

* El presente trabajo fue financiado parcialmente por el CONACYT (PCSABNA-021454).

** Depto. de Ecología Humana, Facultad de Medicina, U.N.A.M., México, D.F. 04510.

*** Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, México, D.F.

normal de cuerpo humano (Emmons *et al.*, 1977) y que *Aspergillus* es un contaminante del ambiente (Rippon, 1982) es muy difícil establecer el diagnóstico de estas micosis sistémicas. Para tratar de hacer más efectivo su diagnóstico, se estudiaron pacientes con afecciones respiratorias utilizando diferentes pruebas inmunológicas con antígenos de *Aspergillus fumigatus* y *Candida albicans* obtenidos en el laboratorio.

MATERIALES Y METODOS

POBLACION ESTUDIADA: El estudio fue realizado en 253 pacientes del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, a los cuales se les tomó 10 ml de sangre para separar el suero, el cual fue almacenado con preservador azida de sodio a -20°C hasta el momento de su utilización.

HONGOS: Para obtener los antígenos se utilizaron cepas de hongos provenientes de casos humanos: *Candida albicans* EH-21 y *Aspergillus fumigatus* EH-37 mantenidas en el laboratorio de Micología Básica del Depto. de Ecología Humana. Las cepas fueron cultivadas en agar de Sabouraud a 26°C .

ANTIGENOS: La candidina y aspergilina utilizadas fueron obtenidas según la técnica descrita previamente por Becerril *et al.* (1985). A los antígenos utilizados se les determinó proteínas (Lowry, 1951) y carbohidratos totales (Dubois *et al.*, 1951).

INTRADERMORREACCION (IDR): El antígeno de candidina para la prueba intradérmica fue regularizado en reactores conocidos (candidina positivos) a una concentración de $10\ \mu\text{g}$ proteína/0.1 ml de solución salina isotónica estéril. La prueba se realizó aplicando 0.1 ml intradérmicamente en la cara interna del antebrazo. Se leyó a las 24 y 48 hr. y se consideró positiva cuando presentaba eritema e induración igual o mayor a 5 mm de diámetro. La aplicación de la candidina se hizo un día después de la toma de la muestra sanguínea para la obtención de suero.

PRUEBAS SEROLOGICAS: La inmunodifusión (ID) se realizó según la técnica de Ouchterlony (1978) con una solución amortiguadora de glicina (7.5% glicina, 0.9% NaCl y 0.1% azida de sodio) con 1% de agarosa. La contraelectroforesis (CE) se llevó a cabo utilizando una solución amortiguadora de veronal pH 8.2 con 1% de agarosa y una corriente de 1 mA por placa durante 1 hr. La prueba de precipitación en tubo capilar (PTC) se llevó a cabo en capilares de vidrio con solución salina estéril. La reacción de fijación de complemento (RFC) se realizó según la técnica del 50% de hemólisis (Manual OPS, 1975).

RESULTADOS

En la tabla 1 se puede observar el resultado de las pruebas inmunológicas en 253 casos con antígeno de *C. albicans*, donde el 1.1% presentó bandas de precipitación en la prueba de ID, el 1.9% presentó bandas en CIE y el 10.6% dió títulos de RFC que variaron del 1:2 al 1:64. La IDR resultó positiva en el 14.2% de los casos.

Por otro lado, en la tabla 2 se observa el resultado con antígeno de *A. fumigatus*, donde el 4.7% presentó bandas en ID y el 1.9% en CIE, el 2.3% dió reacción positiva en PTC y el 7.5% presentó títulos que variaron de 1:4 a 1:256.

Teniendo en cuenta que *C. albicans* es un comensal del organismo, la positividad de las pruebas inmunológicas no indica un diagnóstico de certeza de candidosis sistémica. Se analizaron las diferentes pruebas realizadas y se identificaron 5 casos sugestivos de candidosis sistémicas que se pueden observar en la tabla 3.

Por otro lado, sabiendo que *A. fumigatus* es un hongo ubicuo que se encuentra fácilmente en el ambiente y por lo tanto puede inducir la formación de anticuerpos en personas sanas, analizamos el resultado de las pruebas inmunológicas realizadas con su antígeno, donde se identificaron 9 posibles casos de aspergilosis (Tabla 4).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Existen varias especies de *Candida* que son consideradas como agentes etiológicos de la candidosis sistémica (Rippon, 1982). *C. albicans* es la más frecuente, razón por la cual se obtuvo el antígeno de esta cepa.

Por otro lado, diversas especies de *Aspergillus* son capaces de producir un cuadro micótico en condiciones de oportunismo, sin embargo, *A. fumigatus* es la cepa que con más frecuencia se aísla de estos casos (Diamond, 1983), hecho que justifica la utilización de antígenos obtenidos de esta cepa. Además, tanto *Candida* como *Aspergillus*, presentan antígenos de grupo que son compartidos por las diferentes especies de cada género.

La prueba de IDR con candidina no es útil en el diagnóstico, sin embargo, es ampliamente utilizada para caracterizar el estado de la respuesta inmune celular del individuo. Por ello, en la tabla 3, a pesar de que 3 casos presentaron una IDR negativa, fueron considerados presuntivamente como pacientes con candidosis, debido al alto título (1:32 y 1:64) observado en la reacción de fijación de complemento, además de que el estudio clínico e histopatológico era sugestivo de candidosis. La negatividad de la IDR en estos casos nos sugiere que estos pacientes podrían estar inmunodeprimidos celularmente y por lo tanto expuestos a una infección oportunista. Debido a la presencia de un componente alérgico en *A.*

TABLA 1. RESULTADOS DE PRUEBAS INMUNOLOGICAS CON ANTIGENO DE CANDIDA ALBICANS

PRUEBAS INMUNOLOGICAS	No. DE CASOS POSITIVOS
INMUNODIFUSION (ID)	3 (1.1*)
CONTRAINMUNOELECTROFORESIS (CIE)	5 (1.9)
FIJACION DE COMPLEMENTO (RFC)	
1:2	5
1:4	7
1:8	7
1:16	4
1:32	2
1:64	2
TOTAL RFC	27 (10.6)
INTRADERMORREACCION	36 (14.2)
TOTAL DE CASOS = 253	
* Porcentaje	

TABLA 2. RESULTADOS DE PRUEBAS INMUNOLOGICAS CON ANTIGENO DE ASPERGILLUS FUMIGATUS

PRUEBA INMUNOLOGICA	No. DE CASOS POSITIVOS
INMUNODIFUSION (ID)	12 (4.7*)
CONTRAINMUNOELECTROFORESIS (CIE)	5 (1.9)
PRECIPITACION TUBO CAPILAR	6 (2.3)
FIJACION DE COMPLEMENTO (RFC)	
1:4	7
1:8	0
1:16	2
1:32	5
1:64	4
1:256	1
TOTAL RFC	19 (7.5)
TOTAL DE CASOS = 253	
*Porcentaje	

TABLA 3. POSIBLES CASOS DE CANDIDOSIS EN BASE A LAS PRUEBAS SEROLOGICAS POSITIVAS

CASOS	INMUNODIFUSION	CONTRAINMUNO-ELECTROFORESIS	FIJACION DEL COMPLEMENTO	INTRADERMO-REACCION
1	POSITIVA	POSITIVA	1:64	POSITIVA
2		POSITIVA	1:16	POSITIVA
3			1:32	NEGATIVA
4			1:32	NEGATIVA
5			1:64	NEGATIVA

TABLA 4. POSIBLES CASOS DE ASPERGILOSIS EN BASE A LAS PRUEBAS SEROLOGICAS POSITIVAS

CASOS	INMUNODIFUSION	PRECIPITACION TUBO CAPILAR	FIJACION DE COMPLEMENTO
1			1:32
2			1:32
3			1:32
4	POSITIVA	1:16	1:32
5	POSITIVA	1:8	1:64
6	POSITIVA	1:16	1:64
7	POSITIVA	1:4	1:64
8	POSITIVA		1:64
9	POSITIVA		1:256

fumigatus (Rippon, 1974; Emmons *et al.*, 1970) que se manifiesta en la aspergilosis alérgica, se limita la utilización de la prueba de IDR con antígeno de este hongo, a fin de evitar reacciones no deseadas en los pacientes.

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas inmunológicas, se escogieron los posibles casos de candidosis y aspergilosis en base a los títulos elevados en RFC y PTC, así como la positividad en diferentes pruebas.

Por otro lado, la sola evidencia de anticuerpos a antígenos de *Candida* y *Aspergillus* no es suficiente para hacer el diagnóstico de estas micosis como lo expuesto previamente. Es por ello, que en las pruebas inmunológicas deben ser tomados en cuenta los títulos que presentan los sueros, así como los resultados positivos en diferentes pruebas realizadas. Asimismo, además de las pruebas inmunes, siempre se deben considerar los datos fundamentales del paciente y por lo tanto sugerimos que para establecer un diagnóstico adecuado de candidosis y aspergilosis se tomen los siguientes criterios: características clínicas del paciente, histopatología sugestiva en muestras de tejido, cultivos seriados positivos de muestras biológicas, pruebas inmunológicas seriadas con títulos elevados y resultados similares en precipitinas, aglutininas y fijación de complemento. En base a los resultados obtenidos, sugerimos tomar en consideración títulos de 1:32 en RFC y PTC para candidosis y títulos de 1:32 en RFC y 1:16 en PTC para aspergilosis como sugestivos de la patología.

LITERATURA CITADA

- Becerril, M., G. Acosta, J. Casasola, F. Rébora Gutiérrez, M.L. Díaz Gómez, O. Velasco Castrejón, M.L. Taylor y C. Toriello, 1985. Investigación de la respuesta inmune a antígenos fúngicos en pacientes de un hospital de enfermedades respiratorias. *Rev. Mex. Mic.* 1: 211-226.
- Diamond, R.D., 1983. Humoral responses of the host. *In:* Howard, D.H. (ed.). *Fungi pathogenic for human and animals*. Vol. 3. Marcel Dekker, Nueva York.
- Dubois, M., K. Giles, K. Hamilton, P.A. Reber y F. Smith, 1951. A colorimetric method for the determination of sugar. *Nature* 168: 167.
- Emmons, C.W., C.H. Binford, J.P. Utz y K.J. Kwon-Chung, 1977. *Medical Mycology*. 3rd. ed. Lea and Febiger, Filadelfia.
- Lowry, K.O., N.J. Rosebrough, A.L. Farr y R.J. Randall, 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.

- OPS, 1975. *Manual de procedimientos estandarizados para el serodiagnóstico de las micosis sistémicas. II. Reacciones de fijación del complemento.* Oficina Sanitaria Panamericana. Publ. Cient. 307, Washington, D.C.
- Ouchterlony, O., 1962. Diffusion in gel methods for immunologic analysis. *Prog. Allergy* 6: 30.
- Rippon, J.W., 1982. *Medical Mycology*. 2nd. Ed. W.V. Saunders Company, Filadelfia.