

Fungal diagnostics: the easy, the 'standard' and the complex

Global Fungal Infection Forum 4

**Lima – Perú
September 2019**



Diagnóstico de infecciones fúngicas: lo simple, lo "estándar" y lo complejo

Global Fungal Infection Forum 4

**Lima – Perú
Setiembre 2019**



Mycosis – Criterios Diagnósticos

MAJOR ARTICLE

Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group

Ben De Pauw,^a Thomas J. Walsh,^a J. Peter Donnelly,^a David A. Stevens, John E. Edwards, Thierry Calandra, Peter G. Pappas, Johan Maertens, Olivier Lortholary, Carol A. Kauffman, David W. Denning, Thomas F. Patterson, Georg Maschmeyer, Jacques Bille, William E. Dismukes, Raoul Herbrecht, William W. Hope, Christopher C. Kibbler, Bart Jan Kullberg, Kieren A. Marr, Patricia Muñoz, Frank C. Odds, John R. Perfect, Angela Restrepo, Markus Ruhnke, Brahm H. Segal, Jack D. Sobel, Tania C. Sorrell, Claudio Viscoli, John R. Wingard, Theoklis Zaoutis, and John E. Bennett^b

Clinical Infectious Diseases 2008;46:1813–21



Criterios Diagnósticos EORCT/MSG

Enfermedades Fúngicas Invasoras

Factores del
Huésped

Factores
Clínicos

Evidencias
Micológicas

MICOSIS OPORTUNISTAS

- EFI POSIBLE
- EFI PROBABLE
- EFI PROBADA

MICOSIS ENDÉMICAS

- EFI PROBABLE
- EFI PROBADA

Criterios Diagnósticos EORCT/MSG

Micosis no endémicas

EFI POSIBLE

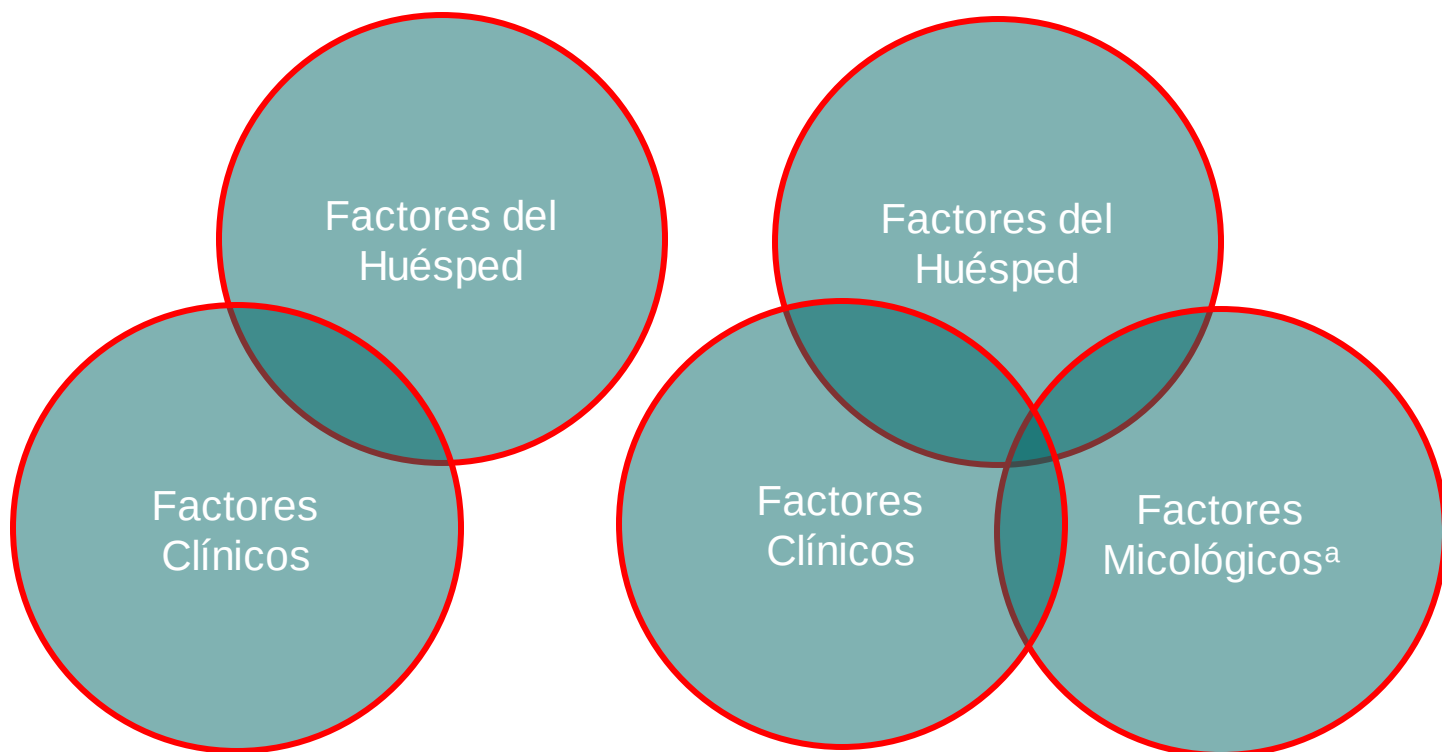
Factores del
Huésped

Factores
Clínicos

Criterios Diagnósticos EORCT/MSG

Micosis no endémicas

EFI POSIBLE



EFI PROBABLE

Cultivo Muestra
NO ESTERIL

Hifas (esputo)

Galactomananos

B-glucanos

EFI PROBADA

Cultivo Muestra
ESTERIL

Antigenorraquia Cn

Invasión tisular

Criterios Diagnósticos EORCT/MSG

Micosis no endémicas

PAPEL DEL LABORATORIO DE MICOLOGIA:

TRANSFORMAR:

EFI POSIBLE → EFI PROBADA

EFI POSIBLE → EFI PROBABLE

DETERMINAR:

QUE UNA EFI POSIBLE NO ES EFI

BADA

estra

L

aquia Cn

ular

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica

NO BASADAS EN CULTIVO

Detección Ac

- Ac. Anti endémicas
- Ac. (IgG *Aspergillus*)
- Ac. (IgE *Aspergillus*)

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos

Molecular

- PCR PJP
- ID desde cortes histológicos
- PCRs “in house”
- PCR comerciales

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica

NO BASADAS EN CULTIVO

Detección Ac

- Ac. Anti endémicas
- Ac. (IgG *Aspergillus*)
- Ac. (IgE *Aspergillus*)

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos

Molecular

- PCR PJP
- ID desde cortes histológicos
- PCRs “in house”
- PCR comerciales

SENSIBILIDAD ATF

- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica

NO BASADAS EN CULTIVO

Detección Ac

- Ac. Anti endémicas
- Ac. (IgG *Aspergillus*)
- Ac. (IgE *Aspergillus*)

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos

Molecular

- PCR PJP
- ID desde cortes histológicos
- PCRs “in house”
- PCR comerciales

SENSIBILIDAD ATF

- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

IDENTIFICACIÓN DEFINITIVA

- Identificación molecular (Gold standard)
- MALDI-TOF
- En muestras (FISH – T2)
- PCR comerciales / in house

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica

NO BASADAS EN CULTIVO

Detección Ac

- Ac. Anti endémicas
- Ac. (IgG *Aspergillus*)
- Ac. (IgE *Aspergillus*)

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos

Molecular

- PCR PJP
- ID desde cortes histológicos
- PCRs “in house”
- PCR comerciales

SENSIBILIDAD ATF

- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

IDENTIFICACION DEFINITIVA

- Identificación molecular (Gold standard)
- MALDI-TOF
- En muestras (FISH – T2)
- PCR comerciales / in house

DOSAJE DE DROGAS

- Itraconazol
- Voriconazol
- Posaconazol

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica

NO BASADAS EN CULTIVO

Detección Ac

- Ac. Anti endémicas
- Ac. (IgG *Aspergillus*)
- Ac. (IgE *Aspergillus*)

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos

Molecular

- PCR PJP
- ID desde cortes histológicos
- PCRs "in house"
- PCR comerciales

SENSIBILIDAD ATF

- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

IDENTIFICACION DEFINITIVA

- Identificación molecular (Gold standard)
- MALDI-TOF
- En muestras (FISH – T2)
- PCR comerciales / in house

DOSAJE DE DROGAS

- Itraconazol
- Voriconazol
- Posaconazol

VENTAJAS Y DESVENTAJAS / COSTOS / UTILIDAD / FORMACION



MICOLOGÍA CLINICA

Herramientas diagnósticas

British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases

Lancet Infect Dis 2015;

Silke Schelenz, Rosemary A Barnes, Richard C Barton, Joanne R Cleverley, Sebastian B Lucas, Christopher C Kibbler, David W Denning, on behalf of the British Society for Medical Mycology

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases

Lancet Infect Dis 2015;

Silke Schelenz, Rosemary A Barnes, Richard C Barton, Joanne R Cleverley, Sebastian B Lucas, Christopher C Kibbler, David W Denning, on behalf of the British Society for Medical Mycology

Recomendaciones para mejorar el diagnóstico por:

- Microscopía
- Cultivo
- PCR y serología
- AST
- Monitoreo de drogas

- Qué muestras estudiar
- En qué pacientes buscar ciertas micosis
- Qué estudios priorizar
- Cuando utilizar técnicas independientes del cultivo
- Qué hongos identificar y a qué nivel
- Qué drogas monitorear y cuando realizar sensibilidad

MICOLOGÍA CLINICA

Herramientas diagnósticas

British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases

Lancet Infect Dis 2015;

Silke Schelenz, Rosemary A Barnes, Richard C Barton, Joanne R Cleverley, Sebastian B Lucas, Christopher C Kibbler, David W Denning, on behalf of the British Society for Medical Mycology

Recomendaciones para mejorar el diagnóstico por:

- Microscopía
- Cultivo
- PCR y serología
- AST
- Monitoreo de drogas

- Qué muestras estudiar
Normalmente estériles y BAL
- Qué estudios priorizar
Histología y cultivo antes de directo
- Qué hongos identificar y a que nivel
A nivel complejo (fenotípico)
- En que pacientes buscar ciertas micosis
Ej. *Cryptococcus* – inmunideprimidos
- Cuando utilizar técnicas independientes del cultivo
Ej. Galactomananos – hemotológicos sin profilaxis
- Que drogas monitorear y cuando realizar sensibilidad
Azoles (no FLC) / *Candida* sitio estéril y *A. fumigatus*



MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

Improvement of fungal disease identification and management: combined health systems and public health approaches

Donald C Cole, Nelesh P Govender, Arunaloke Chakrabarti, Jahit Sacarlal, David W Denning

Lancet Infect Dis 2017

Clasificación de laboratorios

- Por niveles de complejidad
- Nivel económico

	Level 1 microbiology laboratory (eg. district, state, and provincial hospital)	Level 2 microbiology laboratory (eg. centres handling specialised patients or national services)	Level 3 reference mycology laboratory
Low-income country	Point of care in high-burden areas (eg. CrAg LFA); and microscopy, including India ink staining if CrAg LFA is unavailable	Culture and identification of common fungal pathogens (yeasts and moulds); antifungal susceptibility testing for yeasts; aspergillus serology for CPA; serological tests for antigens and antibodies of common endemic mycoses in endemic areas (eg. histoplasmosis); and IgE serology for fungal asthma	Identification of unusual fungi to species level by molecular techniques (eg. MALDI* and sequencing); all specialised tests (serological and molecular) requiring expert capacities, including PCR; laboratory diagnosis of low prevalence mycoses (eg. endemic mycoses in non-endemic areas or imported cases); molecular typing techniques for outbreak investigation; antifungal susceptibility testing of moulds; confirmation of AST of yeast showing unusual patterns of antifungal resistance; molecular resistance detection; culture collection; national standards and quality control programme, along with participation in international programmes; surveillance programmes in conjunction with epidemiologists; and training programme
Middle-income country	Aspergillus serology for CPA; culture of skin (dermatophytes) and mucosal (oral and vaginal) samples; and culture of yeasts and ability to differentiate <i>Candida albicans</i> from other <i>Candida</i> spp	Therapeutic drug monitoring; fluorescent microscopy with optical brightener (eg. tuberculosis laboratory) and other specialised fungal stains; β -1,3-D-glucan for suspected invasive candidiasis in high-volume laboratory; and galactomannan tests for aspergillus infection	Linked diagnostic capabilities for level 3 reference mycology laboratories are the same for middle-income and low-income countries

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

Improvement of fungal disease identification and management: combined health systems and public health approaches

Donald C Cole, Nelesh P Govender, Arunaloke Chakrabarti, Jahit Sacarlal, David W Denning

Lancet Infect Dis 2017

Clasificación de laboratorios

- Por niveles de complejidad
- Nivel económico

Level 1 microbiology laboratory (eg, district, state, and provincial hospital)

Low-income country

Middle-income country

Level 2 microbiology laboratory (eg, centres handling specialised patients or national services)

Low-income country

Middle-income country

Level 3 reference mycology laboratory

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica

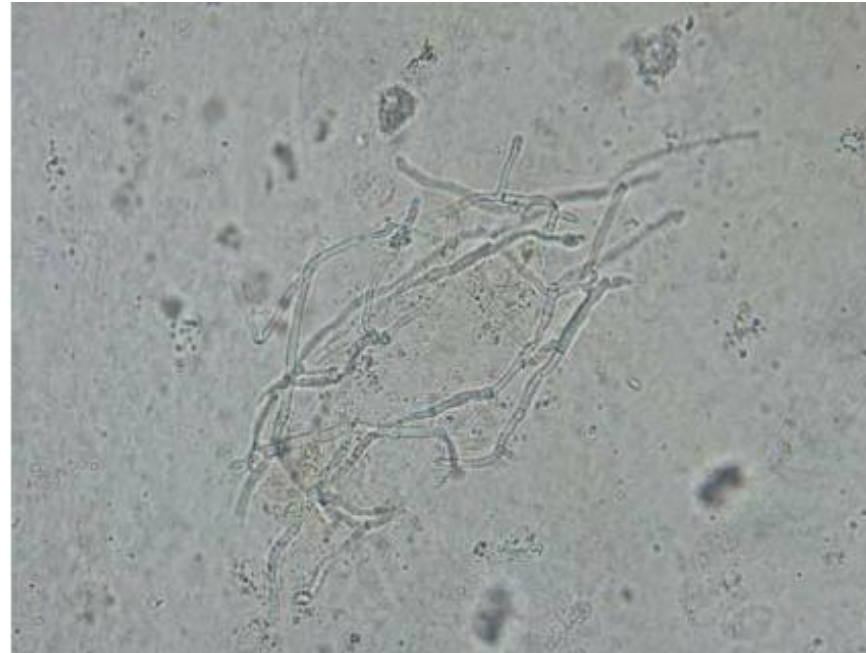


MICOLOGÍA CLÍNICA

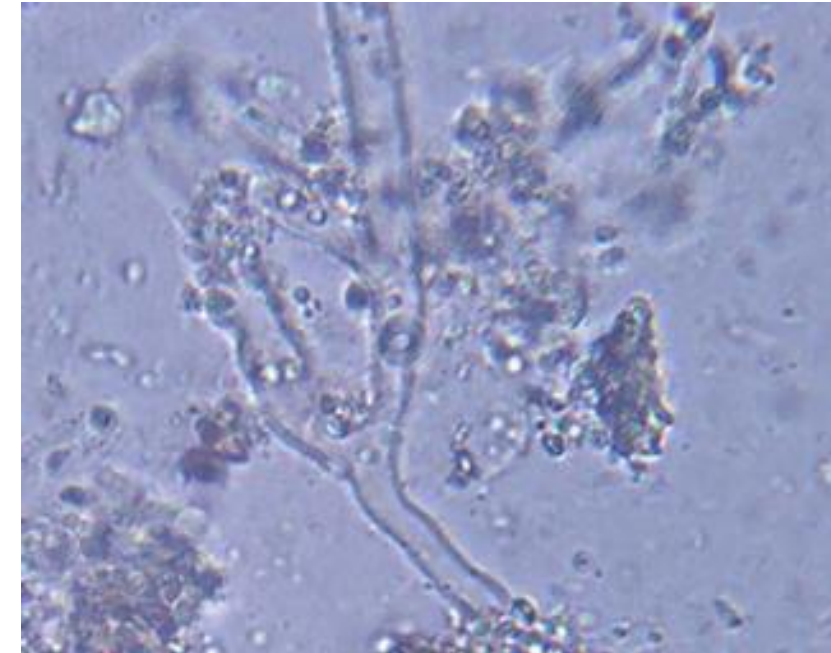
Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



Hialohifomicosis



Mucormicosis

MICOLOGÍA CLÍNICA

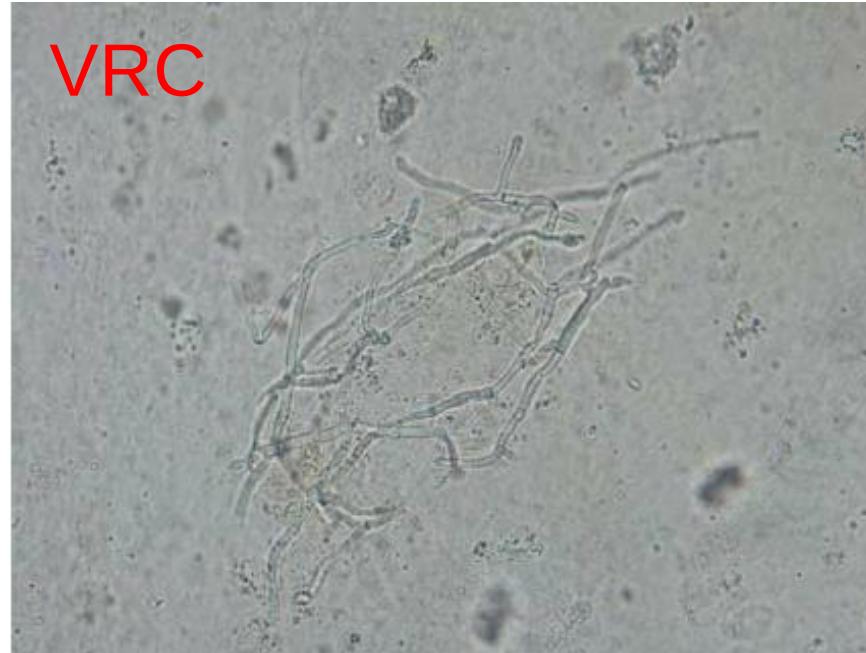
Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica

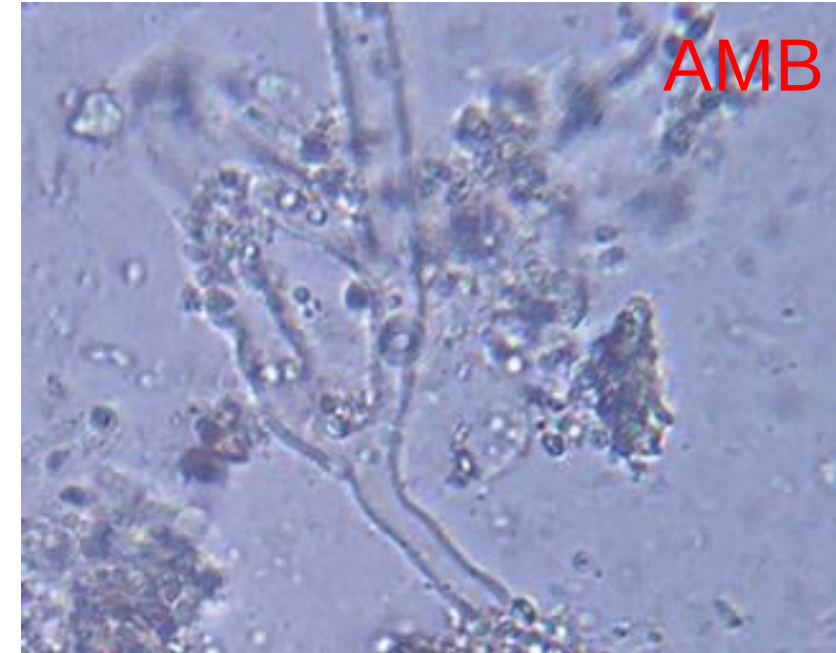


VRC



Hialohifomicosis

AMB



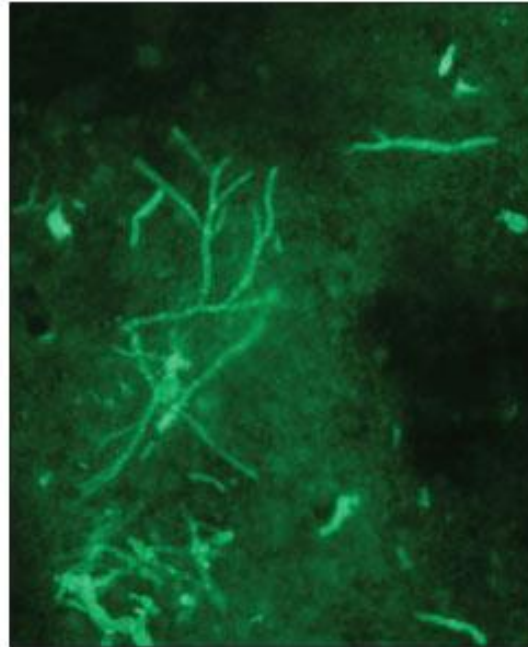
Mucormicosis

MICOLOGÍA CLÍNICA

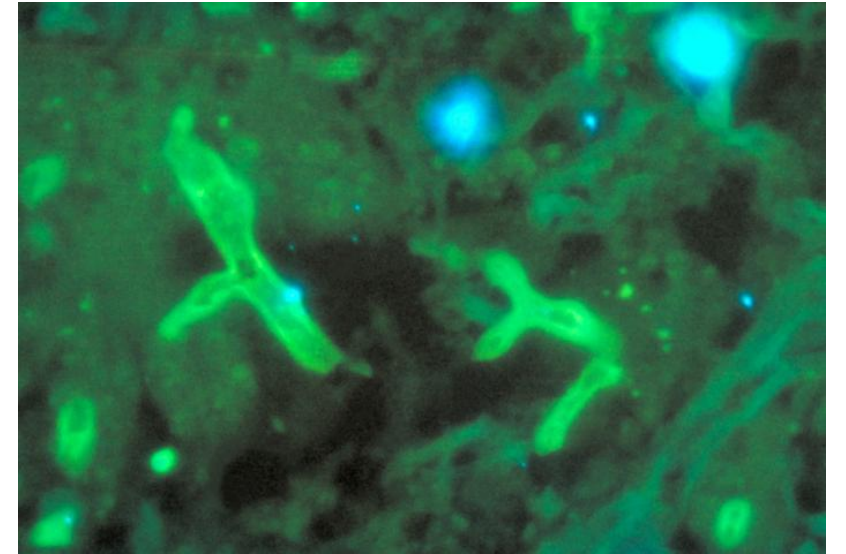
Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



Hialohifomicosis



Mucormicosis

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

Paracoccidioidomicosis

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



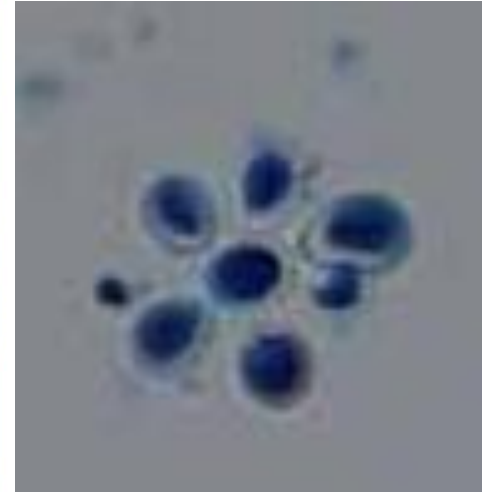
MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

Paracoccidioidomicosis

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



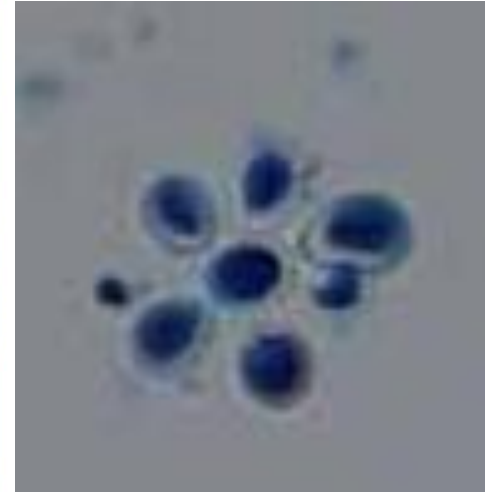
MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

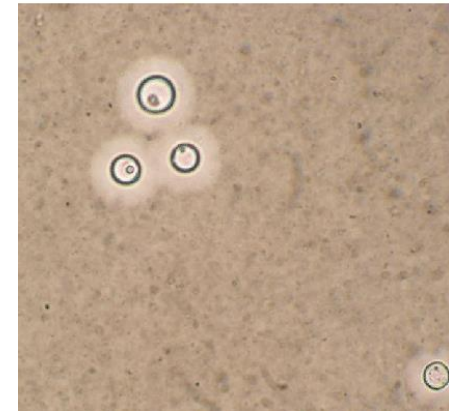
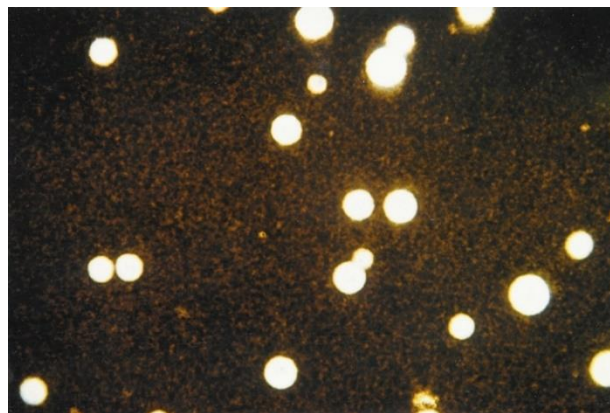
Paracoccidioidomicosis

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



Criptococosis



MICOLOGÍA CLÍNICA

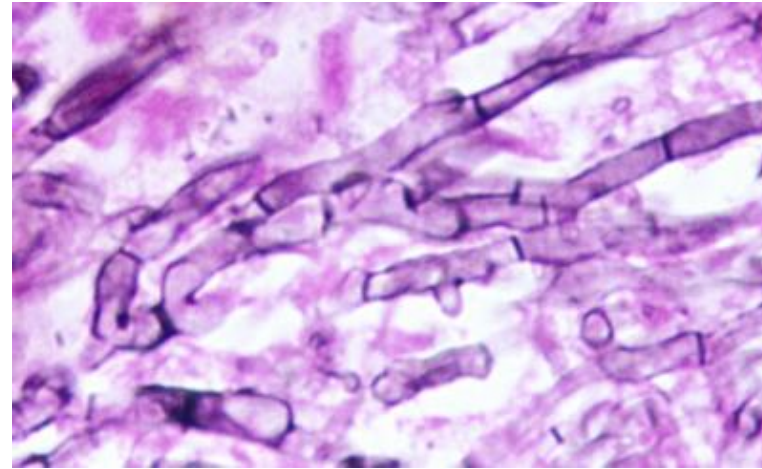
Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

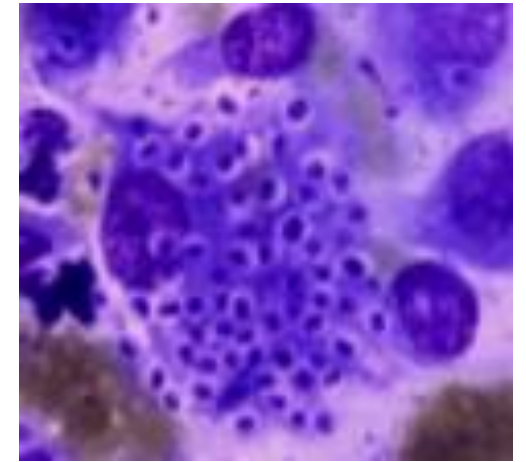
- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



GIEMSA

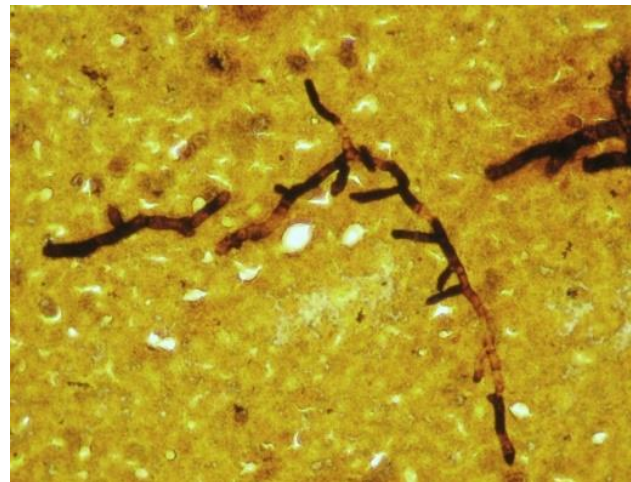


Hialohifomicosis

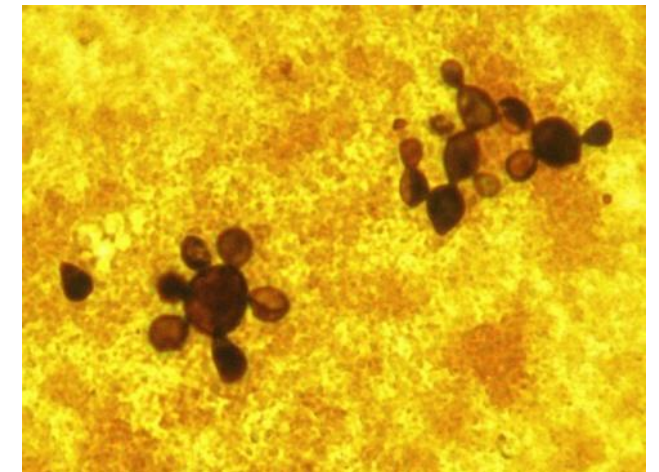


Histoplasmosis

Grocott
rápido



Hialohifomicosis



Paracoccidioidomycosis

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



- EQUIPOS DISPONIBLES EN LA MAYORÍA DE LOS LABs
- MUY ACCESIBLES (< 1 US\$). > equipo para CFW.
- DIAGNÓSTICO DE MICOSIS SUPERFICIALES Y PROFUNDAS
- PUEDE DIRIGIR TTO. EMPIRICO
- RAPIDO (2 hs)

- CAPACIDAD DETECCIÓN MICOSIS (SENSIBILIDAD) DEPENDE DE LA FORMACIÓN DEL OBSERVADOR (30-90%).

- NIVEL I (PAÍSES CON BAJOS INGRESOS) – Cole et al. 2017

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



MICOLOGÍA CLÍNICA

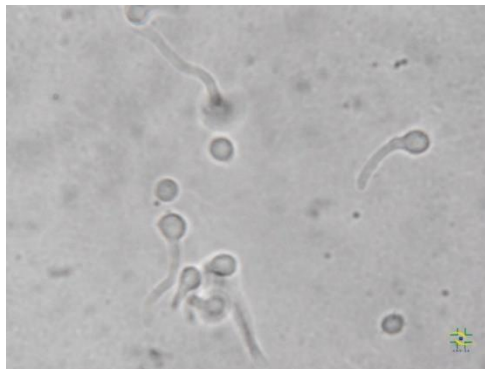
Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



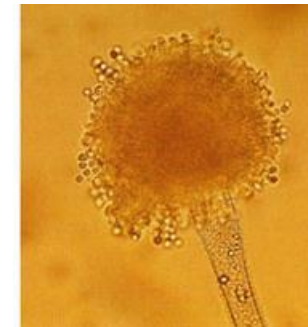
Candida spp./ *Candida albicans*



S a FLC



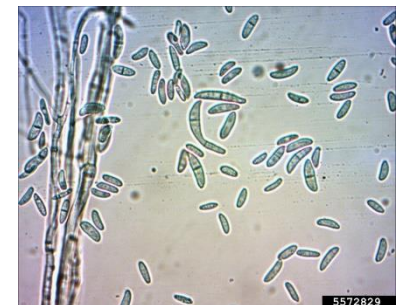
Aspergillus spp.



S a VRC/ITC?



Fusarium spp.



R a VRC

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

Nivel I (ingresos medios)

Nivel II (ingresos bajos)

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica

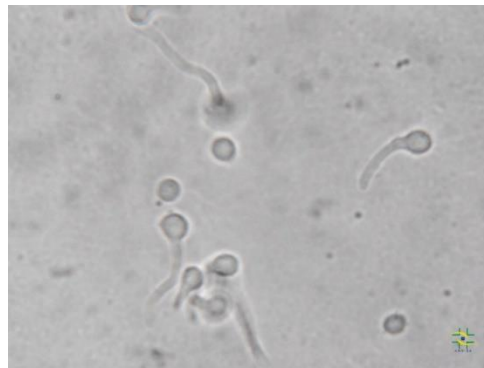


Candida spp./ *Candida albicans*

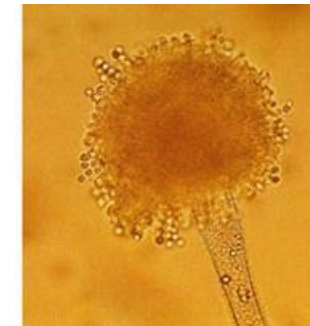


Aspergillus spp.

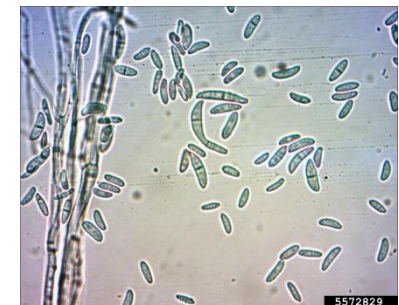
Fusarium spp.



S a FLC



S a VRC/ITC?



R a VRC

Cole et al. Lancet 2017



Pappas et al. CID 2009



MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



Received: 31 December 2018 | Accepted: 3 January 2019

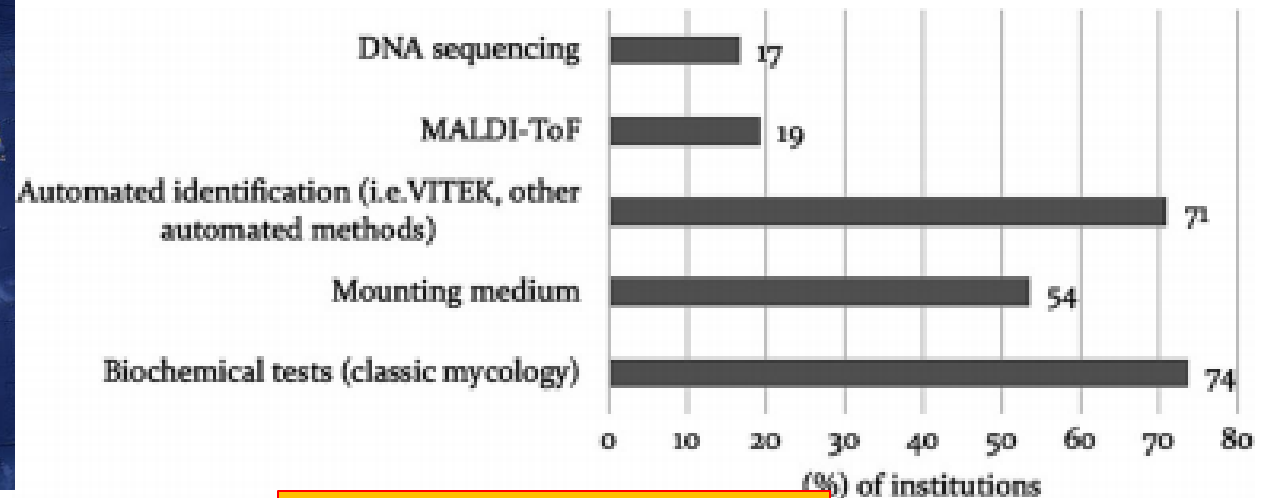
DOI: 10.1111/myc.12890

ORIGINAL ARTICLE

WILEY  mycoses
Research Reviews and Publications of Fungal Diseases

Clinical mycology in Latin America and the Caribbean: A snapshot of diagnostic and therapeutic capabilities

Diego R. Falci^{1,2}  | Alessandro C. Pasqualotto^{3,4,5} 



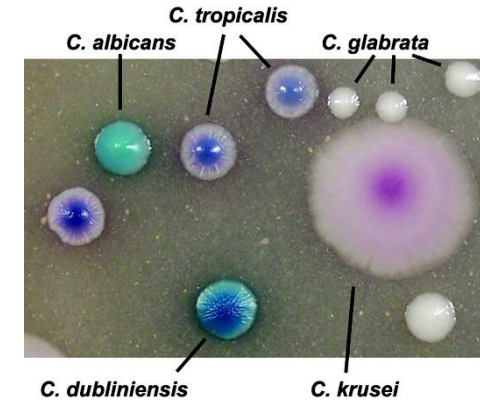
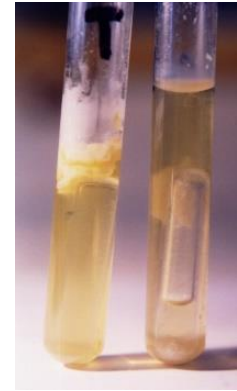
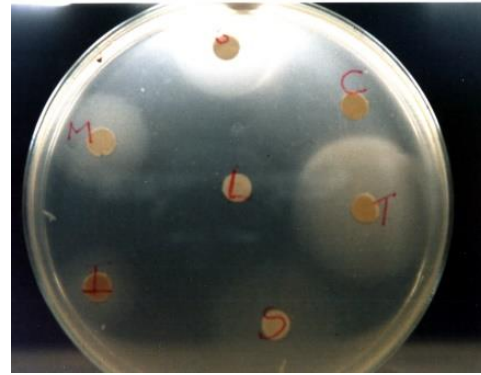
129 centros – 24 países

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



- EQUIPOS DISPONIBLES EN MUCHOS DE LABs (75%)
- ACCESIBLES (1 – 50 US\$). > AUTOMATIZADOS.
- PUEDE DIRIGIR TTO.

- PUEDE SER LENTO (CULTIVO HASTA 45 DIAS).
- PUEDE CONTAMINARSE
- NO IDENTIFICA ESPECIES RESISTENTES NATURALES (CRIPTICAS)
- FORMACIÓN MEDIA/ALTA
- CALIDAD DE LA IDENTIFICACIÓN DEPENDE DE LA FORMACIÓN DEL MICOLOGO.

- NIVEL II (PAÍSES CON BAJOS INGRESOS) – Cole et al.
- SE HACE EN LAB NIVEL I EN PAISES CON INGRESOS MEDIOS EN NUESTRA REGION (NO ESTÁ EN Cole et al)

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

NO BASADAS EN CULTIVO

Detección Ac

- Ac. Anti endémicas
- Ac. (IgG *Aspergillus*)
- Ac. (IgE *Aspergillus*)

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos

Molecular

- PCR PJP
- ID desde cortes histológicos
- PCRs “in house”
- PCR comerciales

MICOLOGÍA CLÍNICA

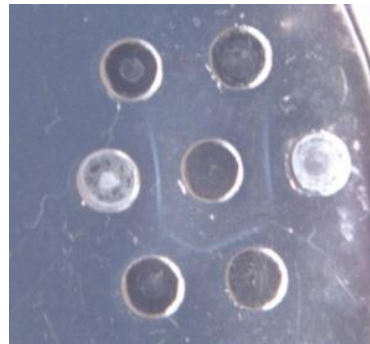
Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ac

- Ac. Anti endémicas
- Ac. (IgG *Aspergillus*)
- Ac. (IgE *Aspergillus*)

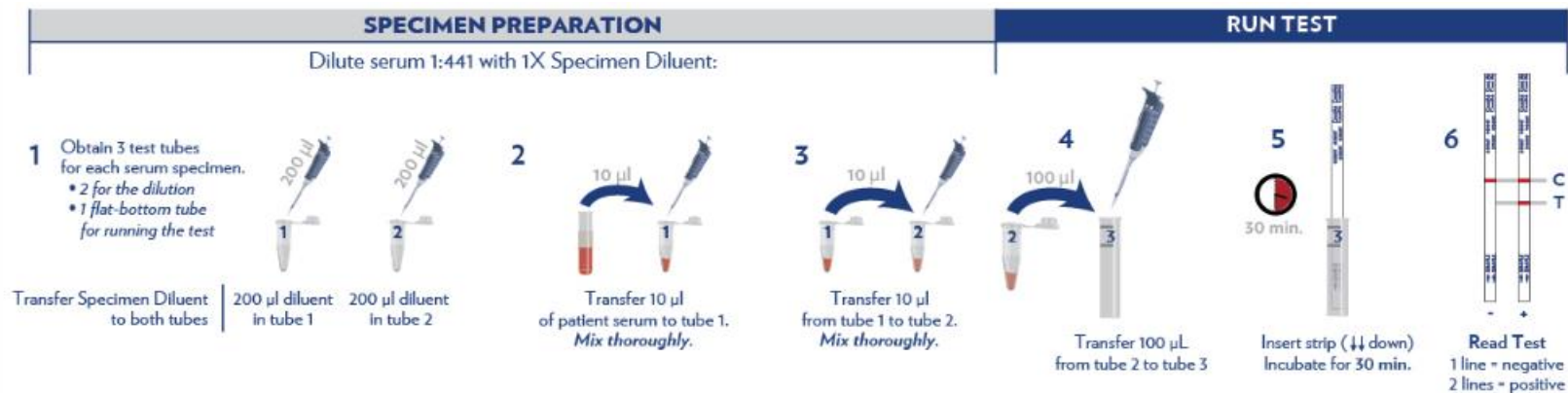
INMUNODIFUSIÓN



En Argentina sin costo (ANLIS)



Comerciales (US\$250 kit)



Lateral Flow (US\$250 kit) → US\$ 5-10 POR MUESTRA

MICOLOGÍA CLINICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ac

- Ac. Anti endémicas
- Ac. (IgG *Aspergillus*)
- Ac. (IgE *Aspergillus*)

- ALGUNOS MUY ACCESIBLE (ARGENTINA)
- COMERCIALES ACCESIBLES (US\$ 5-20)
- TECNICAS INCLUIDAS EN EORCT/MSG (PERMITE COMPARAR RESULTADOS CON OTROS CENTROS)
- RAPIDO-LENTO (hasta 3 días difusión)
- FORMACIÓN BAJA
- NO SE NECESITA ELECTRICIDAD PARA HACERLOS

- NIVEL II (PAÍSES CON BAJOS INGRESOS-ZONA ENDEMICA)
- METODO NO BASADO EN CULTIVO EFI PROBADA (EORCT/MSG)

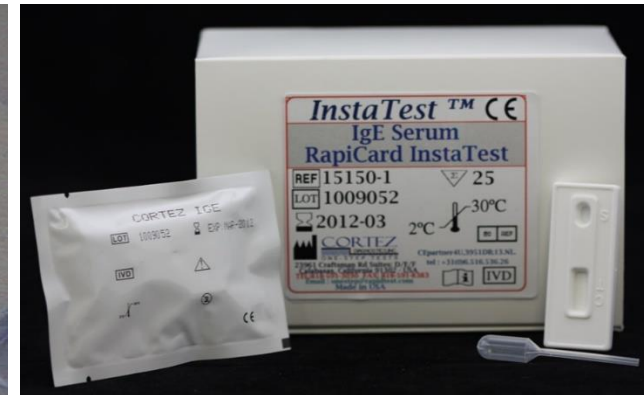
MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

Precipitinas *Aspergillus* IgG



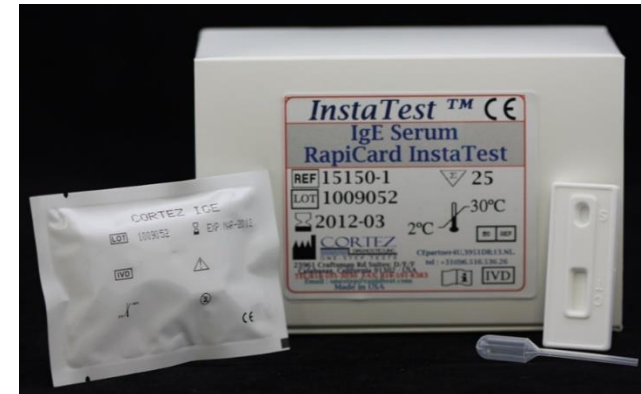
IgE total



Test cutáneo (IgE Asp)



IgE Asp



Alercheck Inc
Cortez Diagnostics
Thermo Scientific
Siemens
Elabsicence
Aviva systems

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ac

- Ac. Anti endémicas
- Ac. (IgG *Aspergillus*)
- Ac. (IgE *Aspergillus*)

MICOLOGÍA CLINICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ac

- Ac. Anti endémicas
- Ac. (IgG *Aspergillus*)
- Ac. (IgE *Aspergillus*)

- ACCESIBLES (PRECIPITINAS).
- FORMACIÓN BAJA
- DIAGNOSTICA > 90% PACIENTES PARA CPA → IgG Asp.
- IgG Asp MAS SENSIBLE QUE CULTIVO
- IgE Asp. Clave para ABPA.

- SOLAS NO DAN DIAGNOSTICO (NECESITAN RADIOLOGIA POR EJ)
- TITULOS IgG VARIAN MUCHO.
- DISCREPANCIA DE CUT OFF EN KITs IgE Y CON SKIN TESTs

- NIVEL II (PAÍSES CON BAJOS INGRESOS). Cole et al 2017
- NIVEL I (PAISES CON INGRESOS MEDIOS). Cole et al 2017

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos



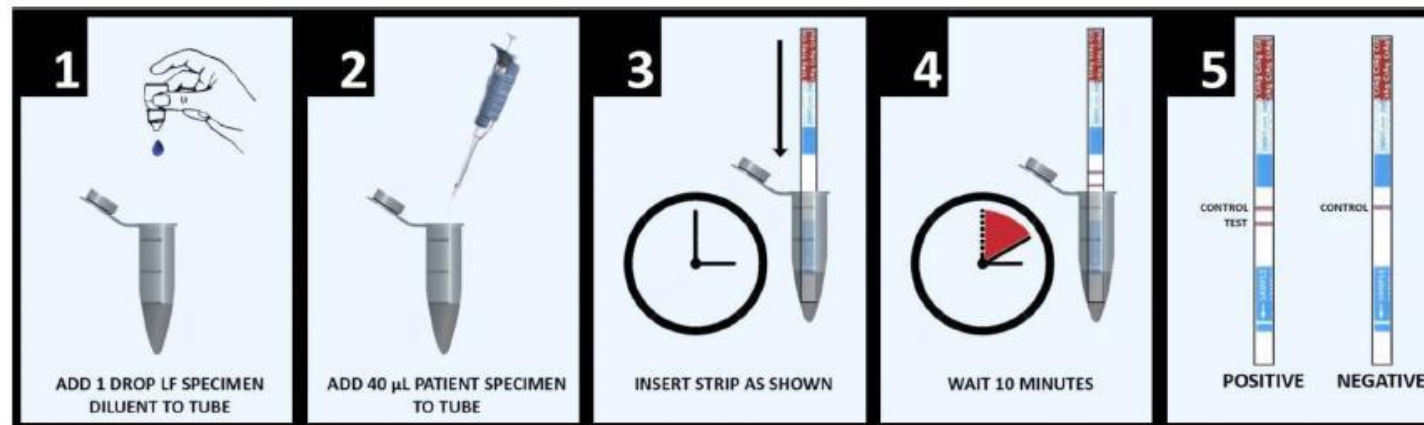
MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos



MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos



MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos

- ACCESIBLES (5-10 US\$).
- FORMACIÓN BAJA
- MUCHAS PRESENTACIONES
- PERMITE TITULAR (EVOLUCION)
- RAPIDO (2 HS)
- 99% O > DIAGNOSTICO (GRAN VALOR PREDICTIVO NEGATIVO)

- PUEDE DAR POSITIVO CON HONGOS MUERTOS

- NIVEL I (PAÍSES CON BAJOS INGRESOS) Cole et al 2017
- METODO NO BASADO EN CULTIVO EFI PROBADA (EORCT/MSG)

MICOLOGÍA CLINICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

DetECCIÓN Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos



MICOLOGÍA CLINICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos

- EN SUERO Y ORINA!!
- >90% CAPACIDAD DE DETECCIÓN
- FORMACIÓN BAJA
- 5-20 US\$

- LATERAL FLOW MENOS EXPERIENCIA
- SE SUELEN JUNTAR MUESTRAS
- PUEDE TENER FALSOS POSITIVOS
- LECTOR DE ELISA

- NIVEL II (PAÍSES CON BAJOS INGRESOS-ZONA ENDEMICA)
- METODO NO BASADO EN CULTIVO EFI PROBABLE (EORCT/MSG)
- CONSIDERADO DIAGNOSTICO ESCENCIAL POR OMS

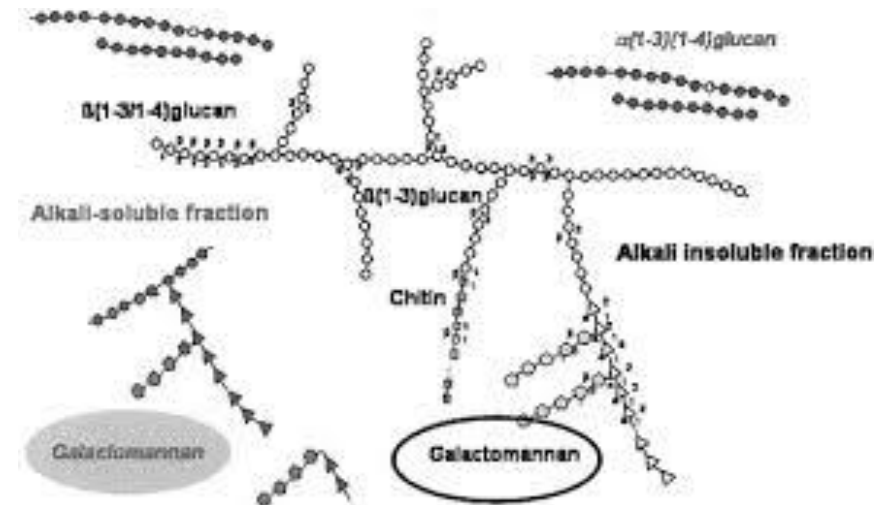
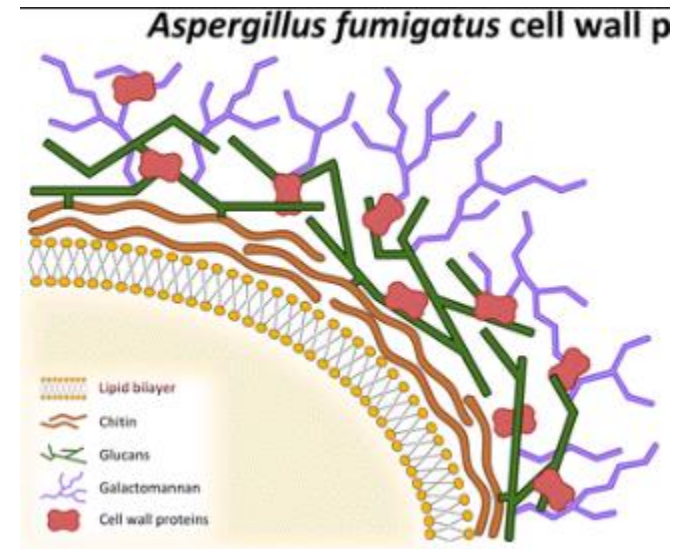
MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos



MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos



SPECIMEN PREPARATION

Obtain 2 test tubes for each specimen: 1 screw cap, heat resistant centrifuge tube for the dilution
1 flat-bottom tube for running the test



MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos

- EN SUERO Y LAVADO BRONCOALVEOLAR!!
- 80-90% CAPACIDAD DE DETECCIÓN BAL (2 MUESTRAS SUERO)
- GRAN VALOR PREDICTIVO NEGATIVO
- FORMACIÓN BAJA
- MUY UTILIZADO
- CUANTITATIVO (ELISA)
- POSITIVO ANTES DE SINTOMAS Y RADIOLOGÍA

- 40-80% CAPACIDAD DE DETECCION SUERO (RATIO 0.5)
- LATERAL FLOW MENOS EXPERIENCIA (CUALI)
- SE SUELEN JUNTAR MUESTRAS
- PUEDE TENER FALSOS POSITIVOS
- CONTAMINACION FACIL
- LECTOR DE ELISA

- NIVEL II (PAÍSES CON INGRESOS MEDIOS)(Cole et al 2017)
- METODO NO BASADO EN CULTIVO EFI PROBABLE (EORCT/MSG)

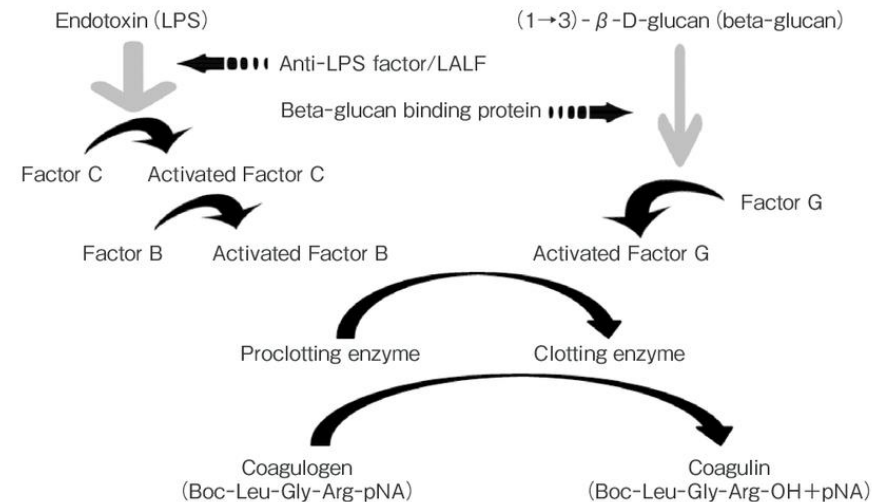
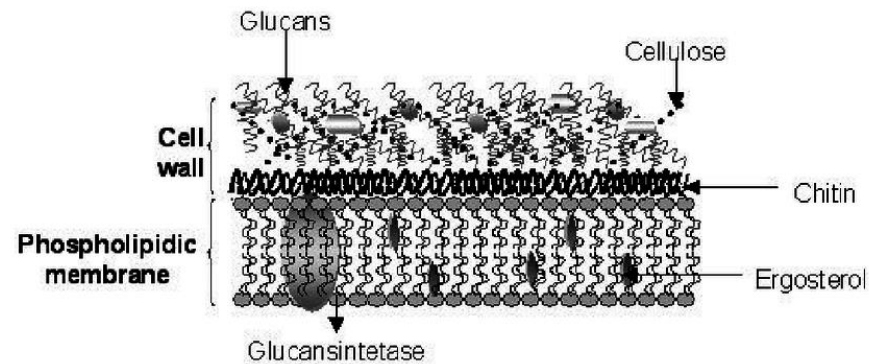
MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos



MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Detección Ag

- *Cryptococcus* spp.
- *H. capsulatum*
- Galactomananos
- β glucanos

• PANFUNGICO

- MUY ALTO VOLUMEN DE MUESTRAS (96 MUESTRAS A LA VEZ)
- LECTOR DE ELISA TERMOSTATIZADO
- LENTO / NO ES "USER FRIENDLY"
- TODO LIBRE DE GLUCANOS (> COSTO)
- FALSOS POSITIVOS Y NEGATIVOS

- NIVEL II (PAÍSES CON INGRESOS MEDIOS) Cole et al 2017
- METODO NO BASADO EN CULTIVO EFI PROBABLE (EORCT/MSG)

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Molecular

- PCR PJP
- ID desde cortes histológicos
- PCRs “in house”
- PCR comerciales



Rev Iberoam Micol. 2013;xxx(xx):xxx-xxx



Revista Iberoamericana
de Micología

www.elsevier.es/reviberoammicol



Original article

Comparison of PCR protocols for detecting *Histoplasma capsulatum* DNA through a multicenter study

María José Buitrago^{a,*}, Cristina Elena Canteros^d, Guadalupe Frías De León^f, Ángel González^b, Manoel Marques-Evangelista De Oliveira^c, César O. Muñoz^b, José Antonio Ramírez^e, Adriana Isabel Toranzo^d, Rosely Zancoppe-Oliveira^c, Manuel Cuenca-Estrella^a



MICOLOGÍA CLINICA

Herramientas diagnósticas

TECNICAS INDIRECTAS

Molecular

- PCR PJP
- ID desde cortes histológicos
- PCRs *"in house"*
- PCR comerciales

- RAPIDO
- RESUELVE PROBLEMAS INHERENTE DEL PATÓGENO

- PERSONAL ESPECIALIZADO
- FALTA COMPARAR METODOLOGÍAS CON MUESTRAS CLINICAS
- SENSIBILIDAD DEPENDIENTE DEL METODO DE EXTRACCION (COSTOSOS).
- INVERSIÓN ALTA
- NO HAY UN GEN PARA TODO
- CAMBIA LA SENSIBILIDAD SEGÚN METODO (real time, PCR, nested)

- NIVEL III (Cole et al. 2017)

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

SENSIBILIDAD

- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

IDENTIFICACION DEFINITIVA

- Identificación molecular (Gold standard)
- MALDI-TOF
- En muestras (FISH – T2)

DOSAJE DE DROGAS

- Itraconazol
- Voriconazol
- Posaconazol

MICOLOGÍA CLÍNICA

Herramientas diagnósticas

SENSIBILIDAD

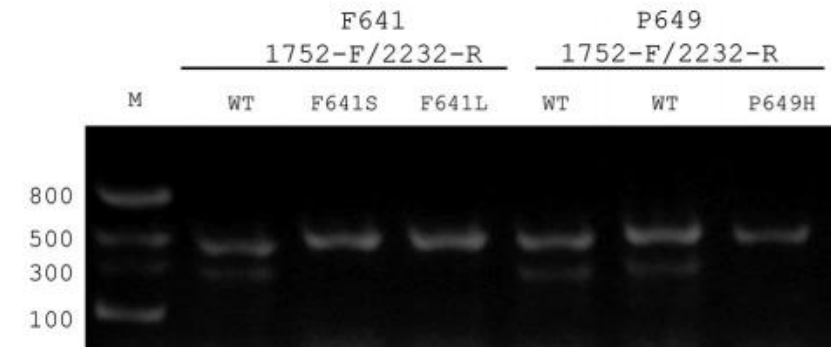
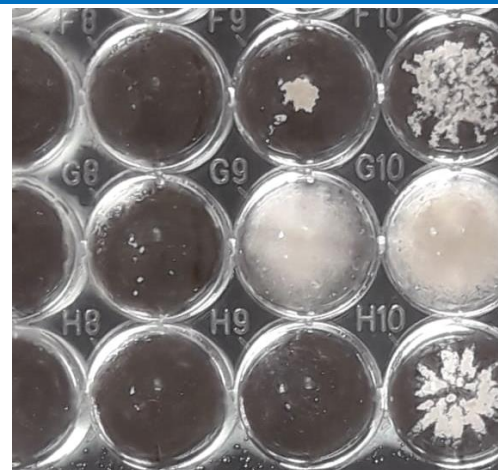
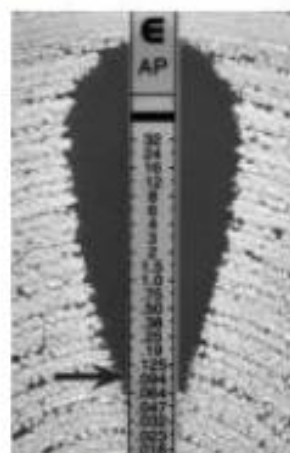
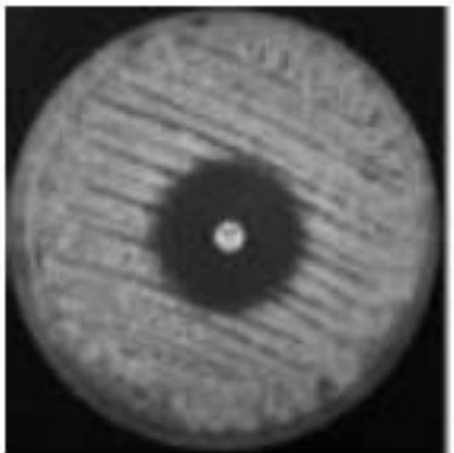
- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

IDENTIFICACION DEFINITIVA

- Identificación molecular (Gold standard)
- MALDI-TOF
- En muestras (FISH – T2)

DOSAJE DE DROGAS

- Itraconazol
- Voriconazol
- Posaconazol



MICOLOGÍA CLINICA

Herramientas diagnósticas

SENSIBILIDAD

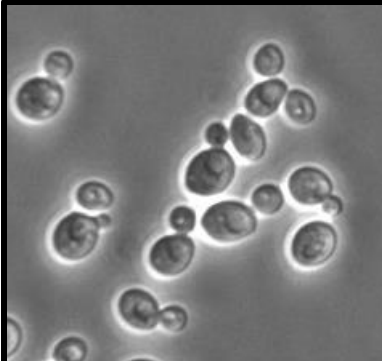
- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

IDENTIFICACION DEFINITIVA

- Identificación molecular (Gold standard)
- MALDI-TOF
- En muestras (FISH – T2)

DOSAJE DE DROGAS

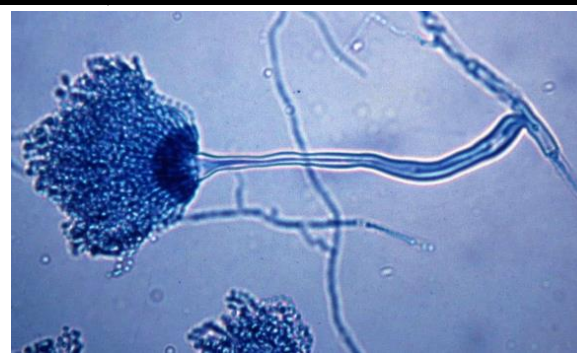
- Itraconazol
- Voriconazol
- Posaconazol



ITS



IGS



Beta tub
Rodlet A



MICOLOGÍA CLINICA

Herramientas diagnósticas

SENSIBILIDAD

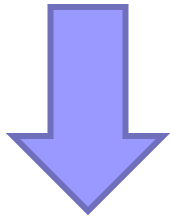
- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

IDENTIFICACION DEFINITIVA

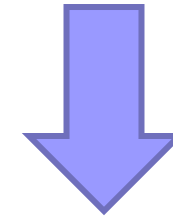
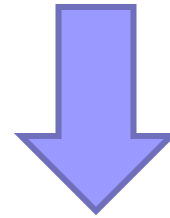
- Identificación molecular (Gold standard)
- MALDI-TOF
- En muestras (FISH – T2)

DOSAJE DE DROGAS

- Itraconazol
- Voriconazol
- Posaconazol



Nivel III



Nivel II (Ingreso medio)

CONCLUSIONES

FACILES

Acceso (económico)

Microscopía directa
Lateral Flow
Serología Endémicas

Técnicamente

MALDI-TOF
Lateral Flow
Serología Endémica

COMPLEJAS

Acceso (caro)

MALDI-TOF
ID molecular

Técnicamente

Microscopia
(formación)
ID molecular

CONCLUSIONES

FACILES

Acceso (económico)

Microscopía directa
Lateral Flow
Serología Endémicas

Técnicamente

MALDI-TOF
Lateral Flow
Serología Endémica

COMPLEJAS

Acceso (caro)

MALDI-TOF
ID molecular

Técnicamente

Microscopia
(formación)
ID molecular

ESTANDAR ACTUAL

TECNICAS NO BASADAS EN CULTIVO → POR RAPIDEZ, SIMPLEZA
DATOS QUE APORTA

CONCLUSIONES

FACILES

Acceso (económico)

Microscopía directa
Lateral Flow
Serología Endémicas

Técnicamente

MALDI-TOF
Lateral Flow
Serología Endémica

COMPLEJAS

Acceso (caro)

MALDI-TOF
ID molecular

Técnicamente

Microscopia
(formación)
ID molecular

ESTANDAR ACTUAL

TECNICAS NO BASADAS EN CULTIVO → POR RAPIDEZ, SIMPLEZA
DATOS QUE APORTA

NO SE AISLAN HONGOS → NO SE SABE SENSIBILIDAD/ESPECIES

MICOLOGÍA CLÍNICA

Estandar en un lab. referencia

Test	Infection	Diagnostic sensitivity	Turnaround time*
Direct microscopy	Invasive infections, skin, hair and nails, VVC	30-90%	2 hours
Antigen	Cryptococcal meningitis	99%	2 hours
PCR on respiratory samples	<i>Pneumocystis pneumonia</i>	98%	1 day
Antigen (ELISA) on serum and respiratory samples	Invasive aspergillosis (histoplasmosis ^o)	80%	2 days
Glucan detection	Most fungal infections, high NPV allowing therapy to be stopped	65-77%	2 days
<i>Aspergillus</i> IgG antibody	Chronic pulmonary aspergillosis	80-95%	2 days
<i>Aspergillus</i> IgE	Screen for ABPA in asthma	>95%	2 days
Fungal culture and identification	All except <i>Pneumocystis</i>	10-50%	3-14 days
Molecular identification from histopathology positive, culture negative	All, especially mould infections	50-60%	7 days
Itraconazole, voriconazole and posaconazole blood levels.TDM	Aspergillosis	100%	3 days

GRACIAS – THANK YOU



95 / 95
BY 2025

Guillermo Garcia-Effron, PhD
Laboratorio de Micología y Diagnostico Molecular
UNL – CONICET
Santa Fe (Capital) – Argentina



ggarcia@unl.edu.ar

<https://micologia-unl.wixsite.com/inicio>

