



# 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



### Micosis - Criterios Diagnósticos

MAJOR ARTICLE

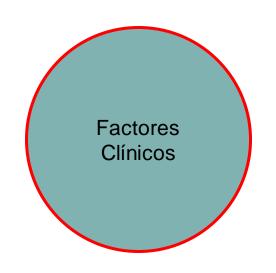
Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group

Ben De Pauw," Thomas J. Walsh," J. Peter Donnelly," 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<sup>b</sup>



# Criterios Diagnósticos EORCT/MSG Enfermedades Fúngicas Invasoras







MICOSIS OPORTUNISTAS

MICOSIS ENDÉMICAS

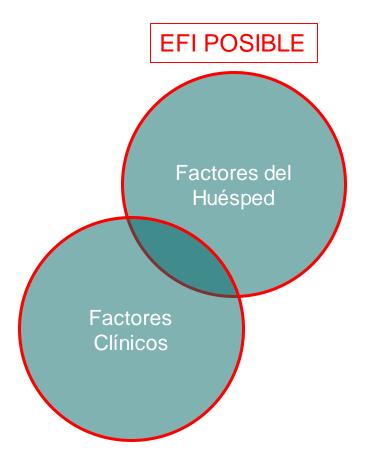
- EFI POSIBLE
- EFI PROBABLE
- EFI PROBADA

- EFI PROBABLE
- EFI PROBADA



# Criterios Diagnósticos EORCT/MSG

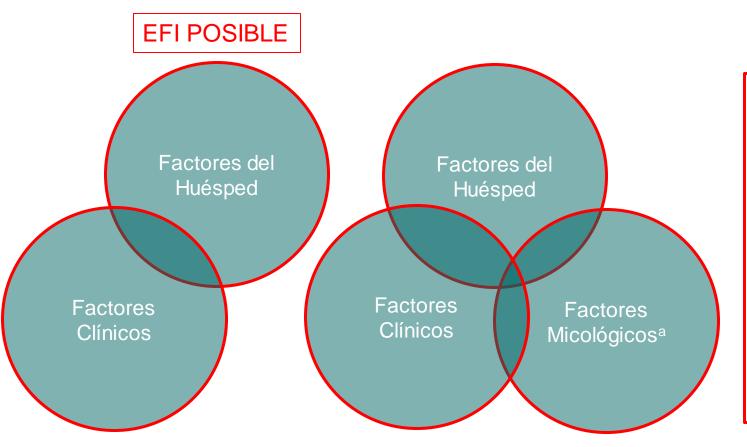
Micosis no endémicas





### Criterios Diagnósticos EORCT/MSG

Micosis no endémicas



#### 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 <u>NO ES EFI</u>

BADA

estra

quia Cn

ular



### Herramientas diagnósticas

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



### 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



### 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



### 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



### 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



### 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

### 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



### 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
- Qué estudios priorizar
- Qué hongos identificar y a que nivel

- En que pacientes buscar ciertas micosis
- Cuando utilizar técnicas independientes del cultivo
- Que drogas monitorear y cuando realizar sensibilidad



### 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 CLINICA 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<br>laboratory (eg. district, state,<br>and provincial hospital)   | Level 2 microbiology laboratory<br>(eg, centres handling specialised patients<br>or national services)   | Level 3 reference mycology laboratory   |
|--------------------------|--|--|---|
| Low-income<br>country    | Point of care in high-burden<br>areas (eg. CrAg LFA); and<br>microscopy, including India ink<br>staining if CrAg LFA is<br>unavailable   | Culture and identification of common fungal<br>pathogens (yeasts and moulds); antifungal<br>susceptibility testing for yeasts; aspergillus<br>serology for CPA; serological tests for antigens<br>and antibodies of common endemic mycoses<br>in endemic areas (eg, histoplasmosis); and IgE<br>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<br>country | Aspergillus serology for CPA;<br>culture of skin (dermatophytes)<br>and mucosal (oral and vaginal)<br>samples; and culture of yeasts<br>and ability to differentiate<br>Candida albicans from other<br>Candida 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  |



### 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 Low-income country

Middle-income country Middle-income country



### Herramientas diagnósticas

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica





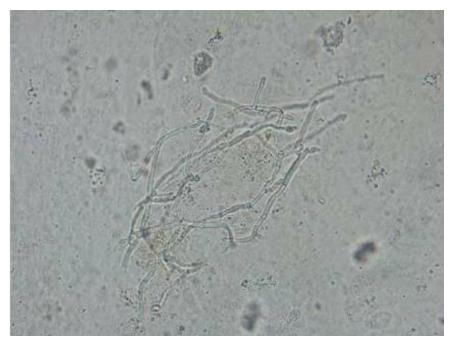


### Herramientas diagnósticas

- Microscopía directa
  - Coloraciones
  - Cultivo
  - Identificación fenotípica







Hialohifomicosis



Mucormicosis

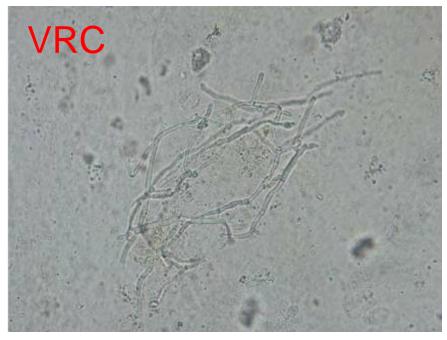


### Herramientas diagnósticas

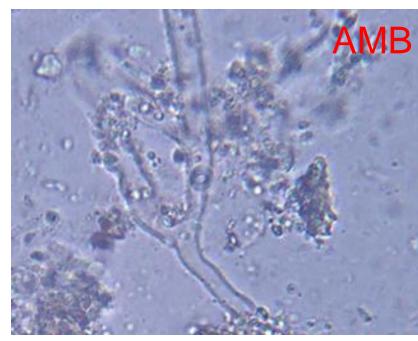
- Microscopía directa
  - Coloraciones
  - Cultivo
  - Identificación fenotípica







Hialohifomicosis



Mucormicosis

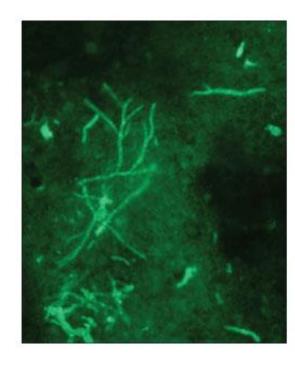


### Herramientas diagnósticas

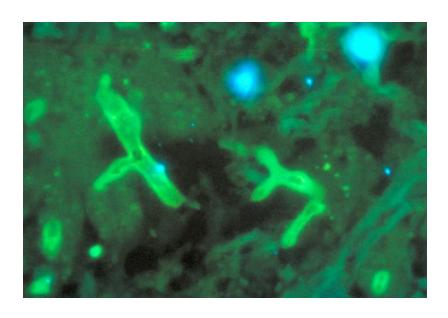
- Microscopía directa
  - Coloraciones
  - Cultivo
- Identificación fenotípica







Hialohifomicosis



Mucormicosis



### Herramientas diagnósticas

Paracoccidioidomicosis

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica









### Herramientas diagnósticas

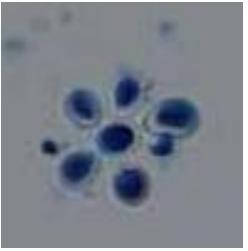
Paracoccidioidomicosis

- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica











### Herramientas diagnósticas

Paracoccidioidomicosis

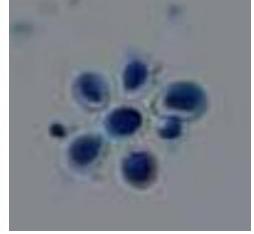
- Microscopía directa
- Coloraciones
- Cultivo
- Identificación fenotípica



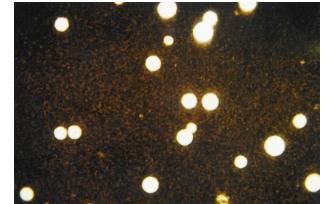


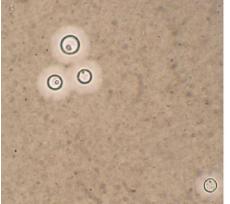






Criptococosis





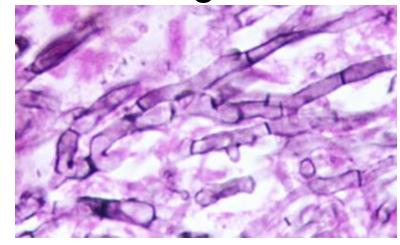
Herramientas diagnósticas

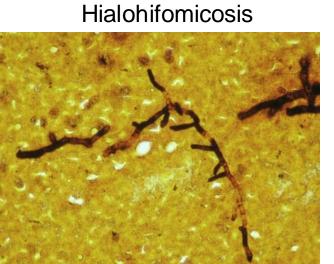
#### MICOLOGÍA CLÁSICA

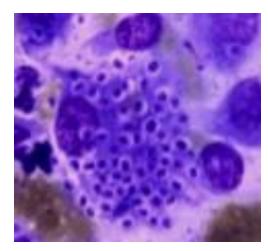
- Microscopía directa
- Coloraciones

  - Identificación fenotípica

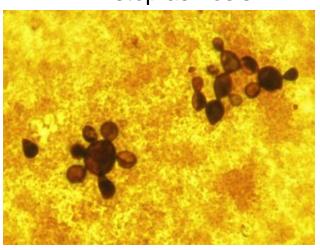
**GIEMSA** 







Histoplasmosis



Paracoccidioidomicosis





Grocott rápido





### Herramientas diagnósticas

- 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

- Microscopía directa
- Coloraciones
  - Cultivo
  - Identificación fenotípica







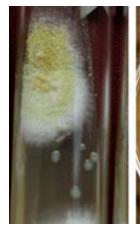
### Herramientas diagnósticas

- Microscopía directa
   Coloragiones
- Cultivo
- Identificación fenotípica













### Herramientas diagnósticas

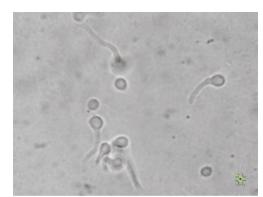
- Microscopía directa
- Cultivo
- Identificación fenotípica



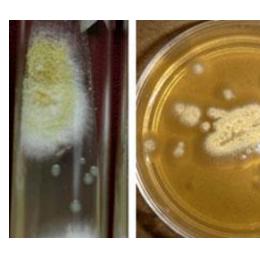




Candida spp./ Candida albicans



S a FLC



Aspergillus spp.



S a VRC/ITC?

R a VRC



Pappas et al. CID 2009

### Herramientas diagnósticas

### Nivel I (ingresos medios)

- Cultivo
- Identificación fenotípica

Microscopía directa

MICOLOGÍA CLÁSICA



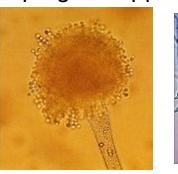
Candida spp./ Candida albicans







Aspergillus spp.



S a VRC/ITC?



Fusarium spp.

R a VRC







Pappas et al. CID 2009

S a FLC

### Herramientas diagnósticas

#### MICOLOGÍA CLÁSICA

- Microscopía directa
- Cultivo
- Identificación fenotípica



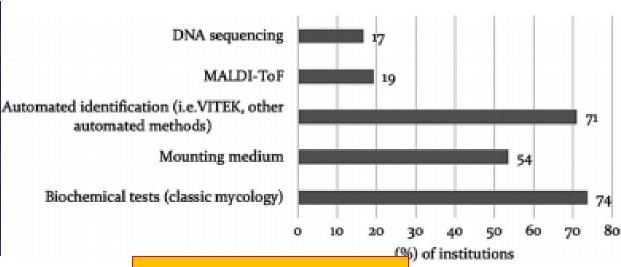






Clinical mycology in Latin America and the Caribbean: A snapshot of diagnostic and therapeutic capabilities

Diego R. Falci<sup>1,2</sup> Alessandro C. Pasqualotto<sup>3,4,5</sup>



129 centros – 24 paises

### Herramientas diagnósticas

#### Nivel I y II (ingresos bajos y medios)

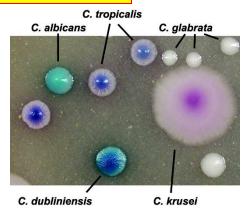
- Microscopía directa
- Cultivo
- Identificación fenotípica















### Herramientas diagnósticas

- 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)



### Herramientas diagnósticas

#### NO BASADAS EN CULTIVO

#### **Detección Ac**

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

#### **Detección Ag**

- Cryptococcus spp.
- Galactomananos
- β glucanos

#### Molecular

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



### Herramientas diagnósticas

#### TECNICAS INDIRECTAS

#### **Detección Ac**

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

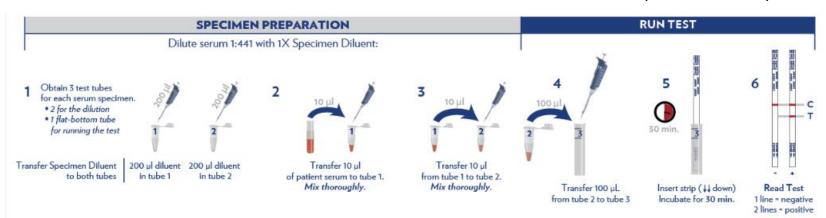
#### **INMUNODIFUSIÓN**



En Argentina sin costo (ANLIS)



Comerciales (US\$250 kit)





### 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 <u>EFI PROBADA</u> (EORCT/MSG)



## Herramientas diagnósticas

Precipitinas Aspergillus IgG

IgE total



#### **Detección Ac**

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

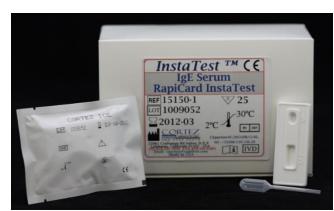




Test cutáneo (IgE Asp)



IgE Asp



Alercheck Inc Cortez Diagnostics Thermo Scientific Siemens Elabsicence Aviva systems



## Herramientas diagnósticas

#### TECNICAS INDIRECTAS

- 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



## Herramientas diagnósticas

### TECNICAS INDIRECTAS

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







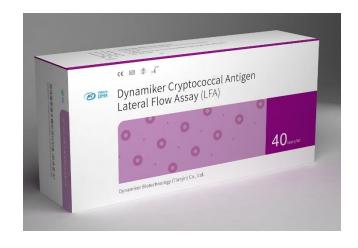


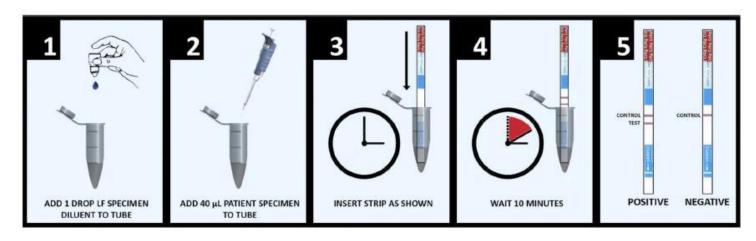
## Herramientas diagnósticas

### TECNICAS INDIRECTAS

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







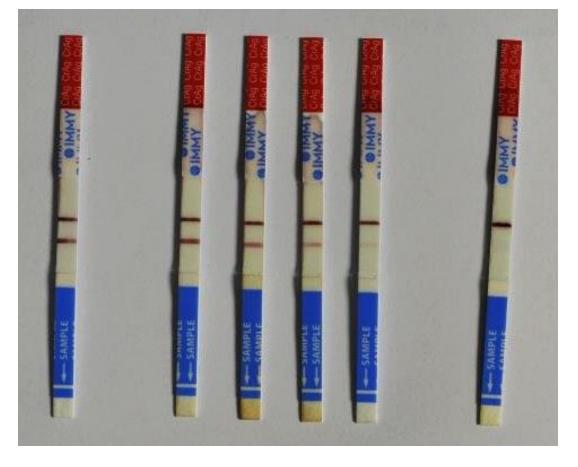


## Herramientas diagnósticas

### TECNICAS INDIRECTAS

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







## Herramientas diagnósticas

#### TECNICAS INDIRECTAS

- 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 <u>EFI PROBADA</u> (EORCT/MSG)



## Herramientas diagnósticas

### TECNICAS INDIRECTAS

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









## Herramientas diagnósticas

### TECNICAS INDIRECTAS

- 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 <u>EFI PROBABLE</u> (EORCT/MSG)
- CONSIDERADO DIAGNOSTICO ESCENCIAL POR OMS



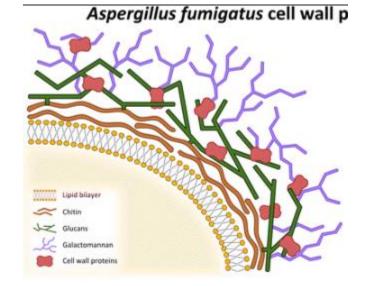
## Herramientas diagnósticas

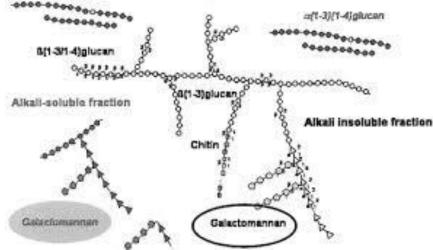
### TECNICAS INDIRECTAS

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











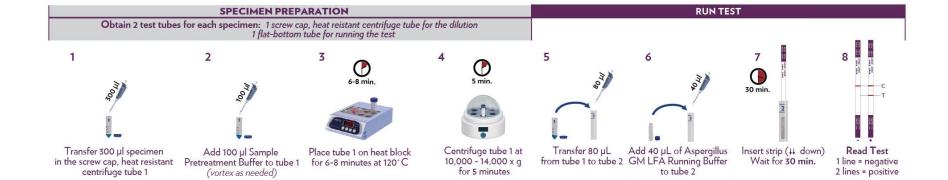
### Herramientas diagnósticas

### TECNICAS INDIRECTAS

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









### Herramientas diagnósticas

- 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 <u>EFI PROBABLE</u> (EORCT/MSG)

### TECNICAS INDIRECTAS

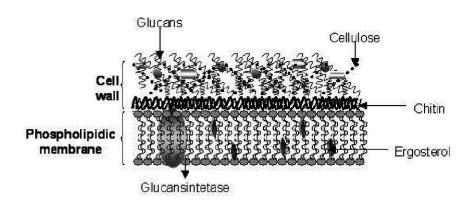
- Cryptococcus spp.
- H. capsulatum
- Galactomananos
- β glucanos



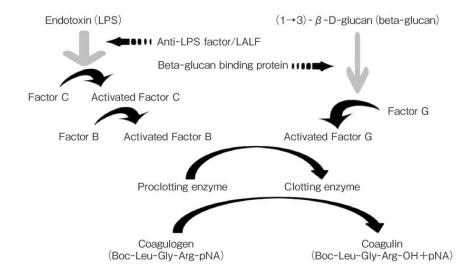
### Herramientas diagnósticas

### TECNICAS INDIRECTAS

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











## 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 <u>EFI PROBABLE</u> (EORCT/MSG)



## Herramientas diagnósticas

#### TECNICAS INDIRECTAS

#### Molecular

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







#### Revista Iberoamericana de Micología

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

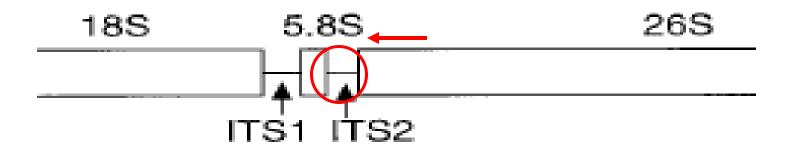
www.elsevier.es/reviberoammicol



Original article

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

María José Buitrago <sup>a,\*</sup>, Cristina Elena Canteros <sup>d</sup>, Guadalupe Frías De León <sup>f</sup>, Ángel González <sup>b</sup>, Manoel Marques-Evangelista De Oliveira <sup>c</sup>, César O. Muñoz <sup>b</sup>, José Antonio Ramirez <sup>e</sup>, Adriana Isabel Toranzo <sup>d</sup>, Rosely Zancope-Oliveira <sup>c</sup>, Manuel Cuenca-Estrella <sup>a</sup>





4 1

## 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 SENSIBLIDAD SEGÚN METODO (real time, PCR, nested)
- NIVEL III (Cole et al. 2017)



## 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



## Herramientas diagnósticas

### **SENSIBILIDAD**

- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

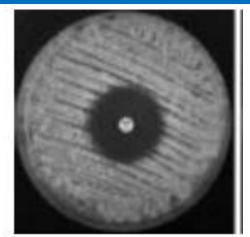
### **IDENTIFICACION DEFINITIVA**

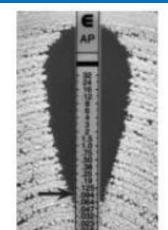
- Identificación molecular (Gold standard)
- MALDI-TOF
- En muestras (FISH T2)

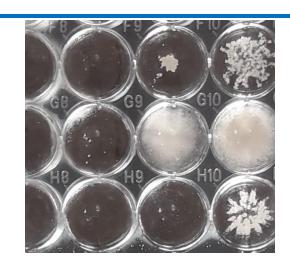
### DOSAJE DE DROGAS

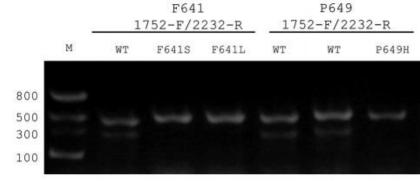
- Itraconazol
- Voriconazol
- Posaconazol













## Herramientas diagnósticas

### **SENSIBILIDAD**

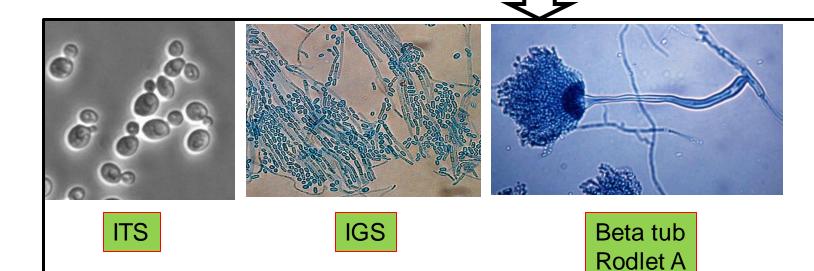
- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

### **IDENTIFICACION DEFINITIVA**

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

### DOSAJE DE DROGAS

- Itraconazol
- Voriconazol
- Posaconazol



## Herramientas diagnósticas

#### **SENSIBILIDAD**

- Discos
- Elipsometría
- CIM
- Molecular

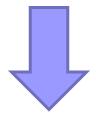
#### **IDENTIFICACION DEFINITIVA**

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

### DOSAJE DE DROGAS

- Itraconazol
- Voriconazol
- Posaconazol





Nivel II (Ingreso medio)



### CONCLUSIONES

### **FACILES**

### **COMPLEJAS**

Acceso (económico)

Microscopía directa Lateral Flow Serología Endémicas Técnicamente

MALDI-TOF Lateral Flow Serología Endémica ID molecular

Acceso (caro)

**MALDI-TOF** 

**Técnicamente** 

Microscopia (formación) ID molecular



### CONCLUSIONES

### **FACILES**

### **COMPLEJAS**

Acceso (económico)

Microscopía directa <u>Lateral Flow</u> <u>Serología Endémicas</u> **Técnicamente** 

MALDI-TOF <u>Lateral Flow</u>

Serología Endémica

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**

### **COMPLEJAS**

Acceso (económico)

Microscopía directa <u>Lateral Flow</u> <u>Serología Endémicas</u> **Técnicamente** 

MALDI-TOF

<u>Lateral Flow</u>

Serología Endémica

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

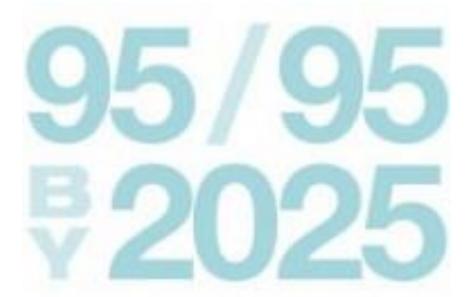
### Estandar en un lab. referencia

| 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  | Pneumocystis pneumonia  | 98%                    | 1 day            |
| Antigen (ELISA) on serum and respiratory samples                        | Invasive aspergillosis (histoplasmosis <sup>6</sup> )           | 80%                    | 2 days           |
| Glucan detection  | Most fungal infections, high NPV allowing therapy to be stopped | 65-77%                 | 2 days           |
| Aspergillus IgG antibody  | Chronic pulmonary aspergillosis                                 | 80-95%                 | 2 days           |
| Aspergillus IgE   | Screen for ABPA in asthma                                       | >95%                   | 2 days           |
| Fungal culture and identification                                       | All except Pneumocystis   | 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





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

