Elda, 19 octubre 2013

AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO DE LA EFI

Javier Pemán

Servicio Microbiología

Hospital Universitario y Politécnico La Fe

Valencia

Diagnóstico micológico EFI

Sospecha clínica

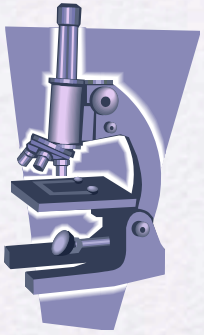
Procedimientos laboratorio

Diagnóstico micológico EFI

Sospecha clínica

Procedimientos laboratorio

Detección del organismo en el tejido



Examen directo

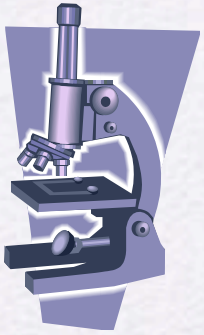
Estudio histológico

Diagnóstico micológico EFI

Sospecha clínica

Procedimientos laboratorio

Detección del organismo en el tejido



- Examen directo
- Estudio histológico

Cultivo

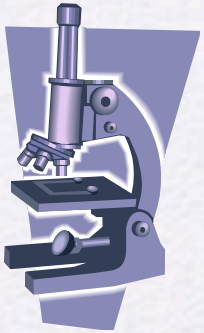
- Aislamiento
- Identificación
- Test sensibilidad AF

Diagnóstico micológico EFI

Sospecha clínica

Procedimientos laboratorio

Detección del organismo en el tejido



- Examen directo
- Estudio histológico

Cultivo

- Aislamiento
- Identificación
- Test sensibilidad AF

Métodos alternativos

- Antígenos
- Anticuerpos
- Metabolitos
- Ácidos nucleicos
- Proteínas

REALIDAD DIAGNÓSTICA ACTUAL:

* Cultivo micológico:
  - Gold Standard: 50% Sensibilidad
  - Tiempo resultado: 1-7 días
* Alternativas:
  - Detección ácidos nucleicos
  - Antígenos, anticuerpos, metabolitos, ...
  - Tiempo resultado: 30 min - 1-2 días

Examen microscópico directo

- VENTAJAS:
  - ☑ Permite un diagnóstico presuntivo rápido
  - ☑ Facilita la instauración precoz del tto.

Examen microscópico directo

- VENTAJAS:
  - ☑ Permite un diagnóstico presuntivo rápido
  - ☑ Facilita la instauración precoz del tto.
- RENTABILIDAD:
  - ☑ En función de la experiencia del observador

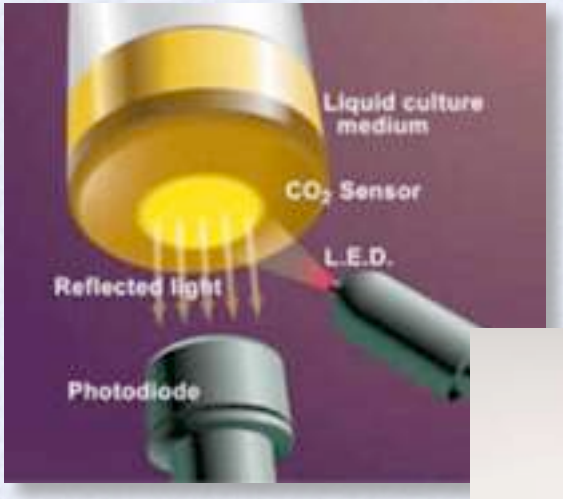
- INCONVENIENTES:
  - ☑ No permite la identificación del agente causal (en candidiasis y aspergilosis invasoras)

AGENDA

1. Examen microscópico directo
2. **Cultivo micológico**
3. Detección de:
   - Antígenos
   - Componentes no antigénicos
   - Anticuerpos
   - Ácidos nucleicos

Sistemas automatizados de hemocultivo

BacT/Alert 3D
(bioMérieux)



Sensibilidad global: 50%

Sistemas automatizados de hemocultivo

Tipos de botellas:

Sistemas automatizados de hemocultivo

Tipos de botellas:

- Botellas convencionales para bacterias

Sistemas automatizados de hemocultivo

Tipos de botellas:

- Botellas convencionales para bacterias

- Botellas específicas para hongos:

Sistemas automatizados de hemocultivo

Tipos de botellas:

- Botellas convencionales para bacterias

Infecciones sistémicas por H filamentosos (Fusarium)
Sepsis mixtas (bacterias + levaduras)

- Botellas específicas para hongos:
  - Mycosis-IC F® (Bactec-Becton Dickinson)

Sistemas automatizados de hemocultivo

Tipos de botellas:

- Botellas convencionales para bacterias

Infecciones sistémicas por H filamentosos (Fusarium)
Sepsis mixtas (bacterias + levaduras)

- Botellas específicas para hongos:
  - Mycosis-IC F® (Bactec-Becton Dickinson)
  - MYCO/F LYTIC® (Bactec-Becton Dickinson)

Infecciones sistémicas por H. capsulatum

Sistemas automatizados de hemocultivo

Nº de botellas y VOLUMEN a inocular:

Sistemas automatizados de hemocultivo

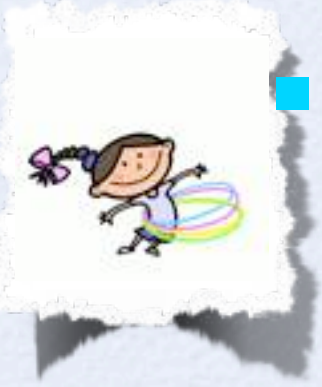
Nº de botellas y VOLUMEN a inocular:

- Dos frascos en cada extracción (aeróbico y anaeróbico): 10 ml/frasco

Sistemas automatizados de hemocultivo

Nº de botellas y VOLUMEN a inocular:

- Dos frascos en cada extracción (aeróbico y anaeróbico): 10 ml/frasco



- En niños, frasco pediátrico (un sólo frasco por extracción): 5 ml/frasco

Sistemas automatizados de hemocultivo

Tiempo incubación:

NO crecimiento

- 5-7 días → 21 días
- Final incubación:
  - ¡¡¡ Examen MACROscópico !!! + Subcultivo ciego

Velocidad de crecimiento hemocultivo

- 642 candidemias H Univ La Fe (2004-2013):
  - Media: 36,3 h (2,2 h - 7,5 d)
  - Mediana: 31,4 h

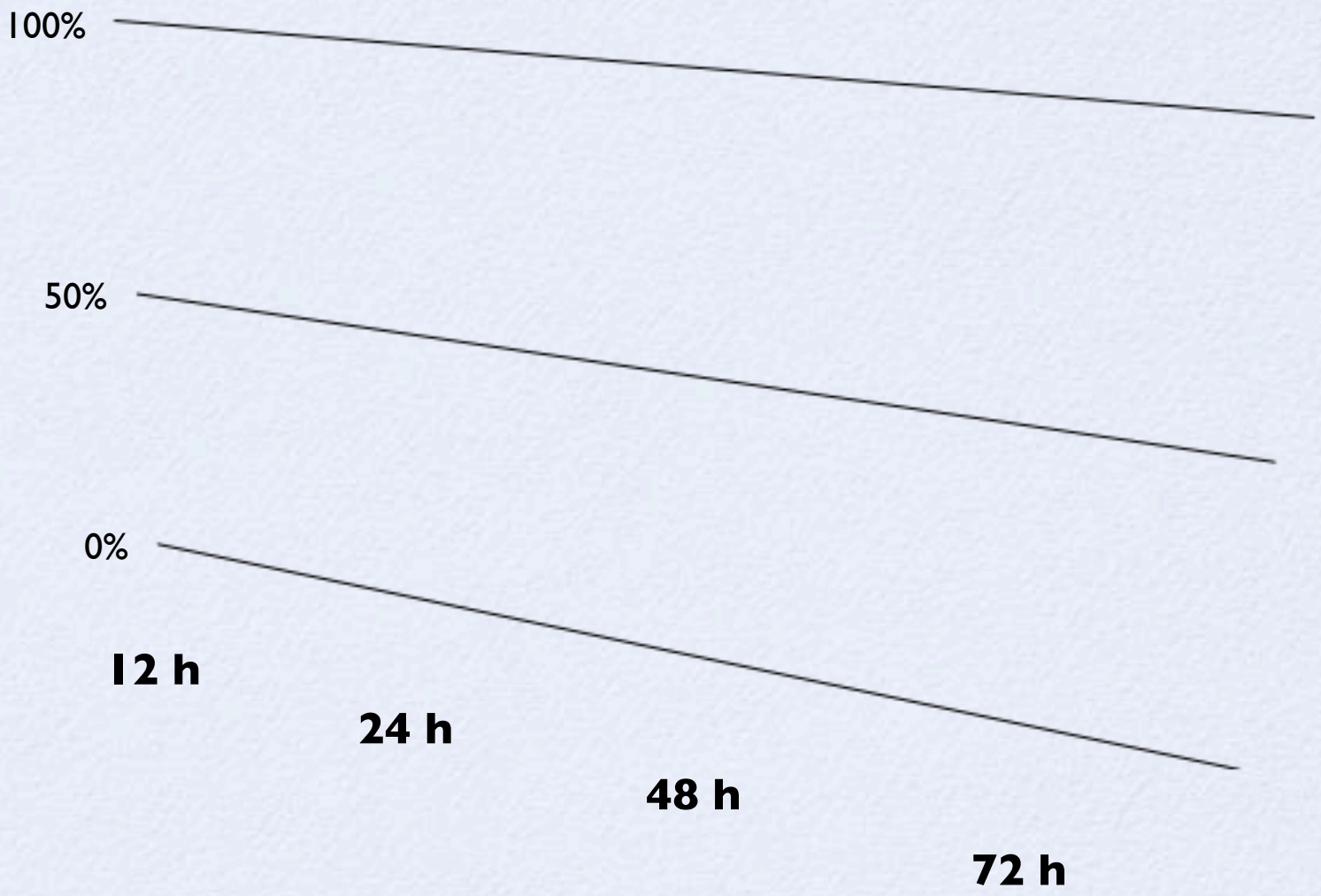
Velocidad de crecimiento hemocultivo

- 642 candidemias H Univ La Fe (2004-2013):
  - Media: 36,3 h (2,2 h - 7,5 d)
  - Mediana: 31,4 h

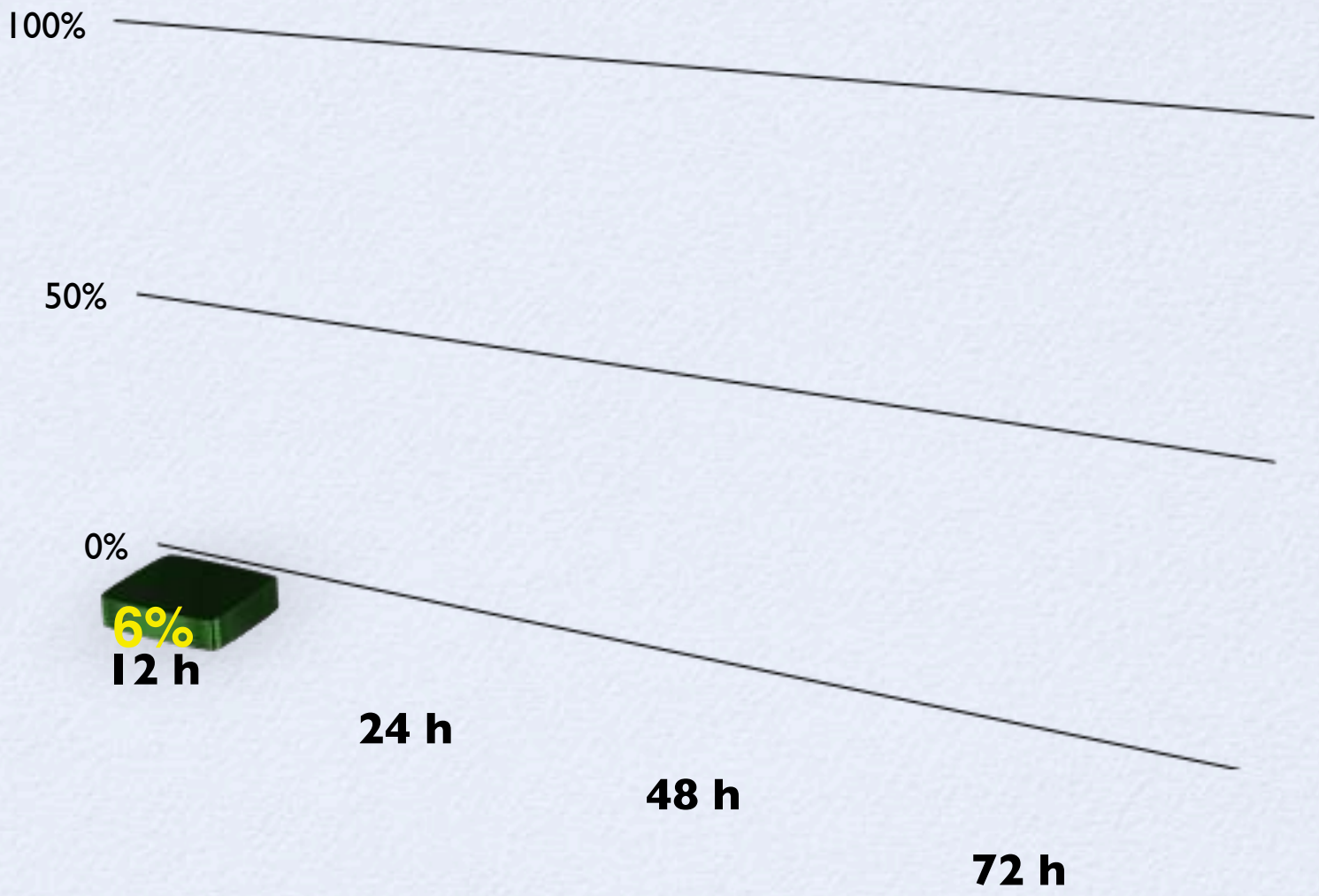
- ★ *C. parapsilosis* (294): 34,7 h (2,2 h - 5 d)
- ★ *C. glabrata* (39): 66,9 h (7,5 h - 5,1 d)
- ★ *C. albicans* (220): 33,1 h (8,7 h - 5,6 d)
- ★ *C. tropicalis* (36): 19,8 h (6,9 h - 2,4 d)

VELOCIDAD DE CRECIMIENTO
Hemocultivo

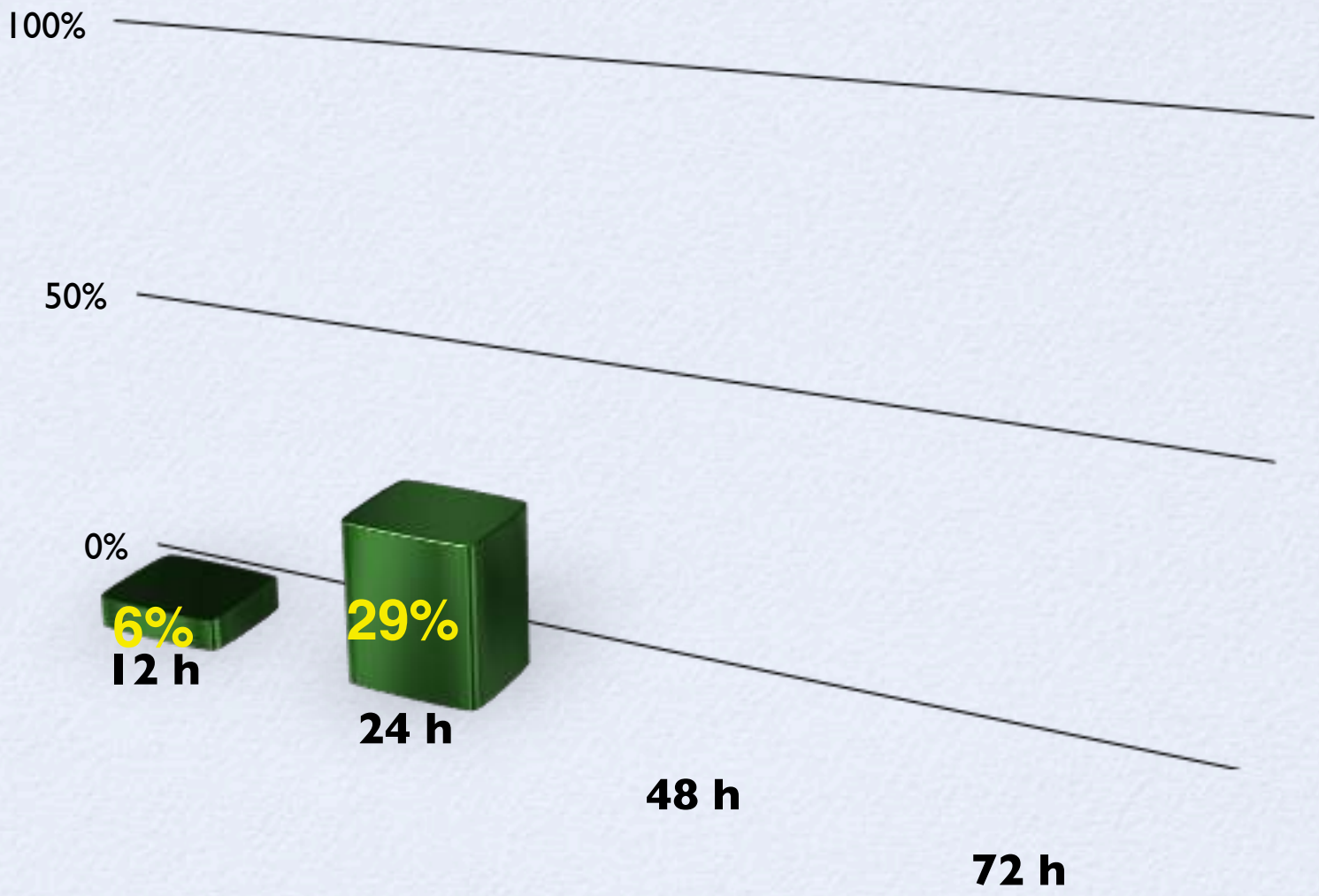
Velocidad de crecimiento Hemocultivo



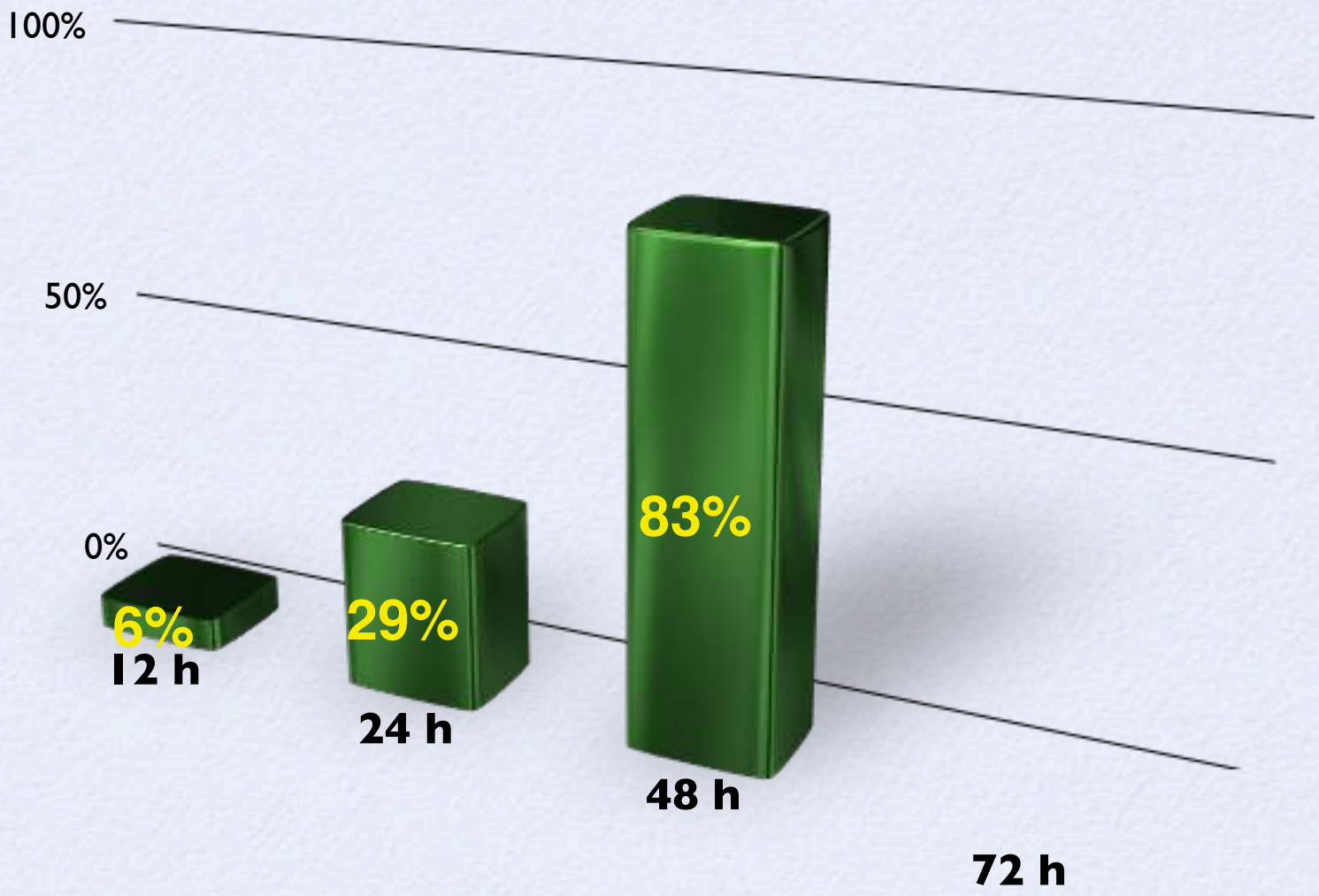
Velocidad de crecimiento Hemocultivo



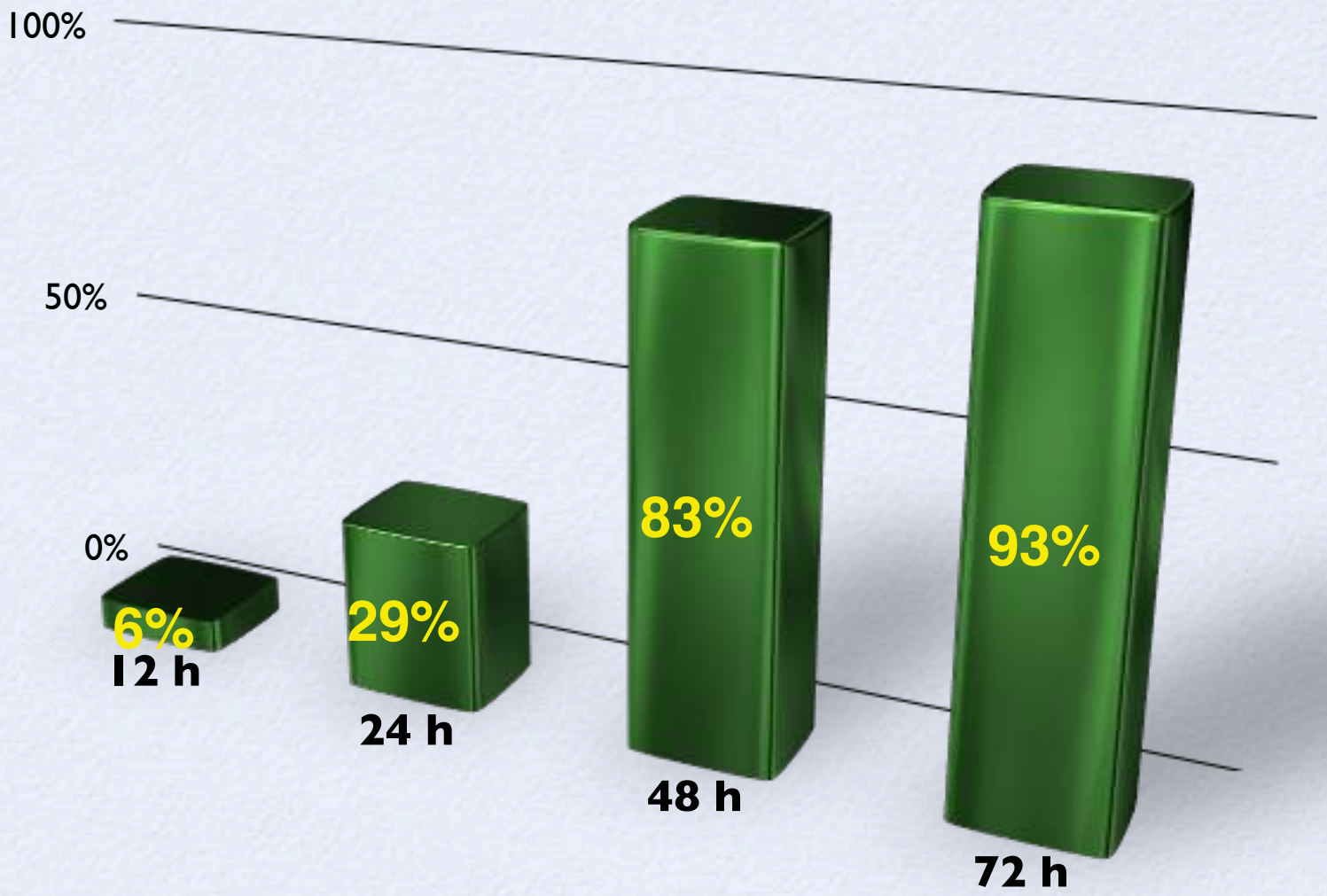
Velocidad de crecimiento Hemocultivo



Velocidad de crecimiento Hemocultivo

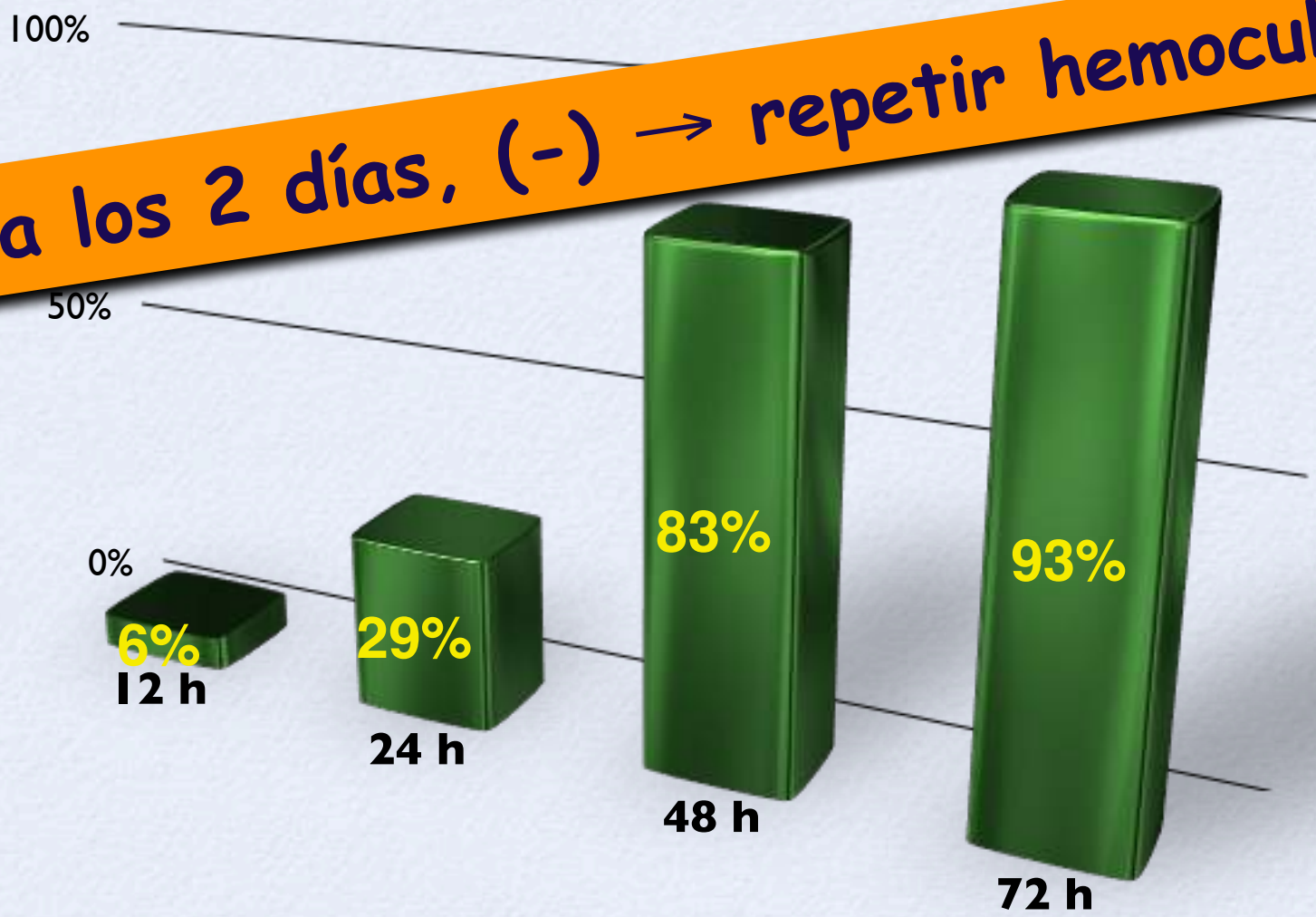


Velocidad de crecimiento Hemocultivo



Velocidad de crecimiento Hemocultivo

Si a los 2 días, (-) → repetir hemocultivo



Buscando un ideal

Técnicas diagnósticas:

- 2% costes de salud
- 60-70% decisiones terapéuticas

Test diagnóstico ideal:

- Sencillo de realizar
- Fiable (presencia / ausencia enfermedad)
- Ser positivo en cualquier estadio infección

ASSURED: Affordable **S**ensitive **S**pecific **U**ser-friendly **R**obust & rapid **E**quipment-free **D**eliverable

There is not a single test with all these features!

ASM, 2012: Bringing the lab to the patient

Biomarcadores

Antígenos:

- Manano (EBCA1 Mab) — Platelia Candida Ag
- Galactomanano (EB-A2 Mab) — Platelia Aspergillus
- Glucoroxilmanano — Crypto Latex

Anticuerpos:

- Anti-manano — Platelia Candida Ab
- Anti-micelio — C. albicans IFA IgG

Panfúngico:

- (1→3)-β-D Glucano — Fungitell

ADN:

- MycAssay Aspergillus / Pneumocystis (Mycognostica)
- LightCycler Septifast Test M (Roche)
- Film Array (BioFire)

Biomarcadores

PROS:

Principal ventaja: Rapidez

CONTRAS:

Inconvenientes: Rápida eliminación y/o baja producción de algunos biomarcadores
(analizar muestras seriadas)

Hándicap importante: agentes causales no pueden aislarse para estudios posteriores
(sensibilidad, tipado, epidemiología)

Técnicas **no familiares y poco disponibles** en muchos hospitales

Biomarcadores YA INCLUIDOS en Guías y Recomendaciones (ECIL, ESCMID, IDSA, SEIMC)

Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011;29(1):39.e1–39.e15

ELSEVIER DOYMA

Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc

Documento de consenso

Recomendaciones sobre el diagnóstico de la enfermedad fúngica invasora de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Actualización 2010

Josefina Ayats[a], Estrella Martín-Mazuelos[b,*], Javier Pemán[c], Guillermo Quindós[d], Fernando Sánchez[e], Julio García-Rodríguez[f], Josep Guarro[g], Jesús Guinea[h], María J. Linares[i], José Pontón[d], Juan L. Rodríguez-Tudela[j] y Manuel Cuenca-Estrella[j,*], Grupo de Estudio de Micología Médica de la SEIMC (GEMICOMED)[◊]

IDSA GUIDELINES

Clin Infect Dis 2013

A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)[a]

Ellen Jo Baron,[1,2] J. Michael Miller,[3] Melvin P. Weinstein,[4] Sandra S. Richter,[5] Peter H. Gilligan,[6] Richard B. Thomson Jr.,[7] Paul Bourbeau,[8] Karen C. Carroll,[9] Sue C. Kehl,[10] W. Michael Dunne,[11] Barbara Robinson-Dunn,[12] Joseph D. Schwartzman,[13] Kimberle C. Chapin,[14] James W. Snyder,[15] Betty A. Forbes,[16] Robin Patel,[17] Jon E. Rosenblatt,[17] and Bobbi S. Pritt[17]

ESCMID PUBLICATIONS Clin Microbiol Infect 2012

10.1111/1469-0691.12038

ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures

M. Cuenca-Estrella[1†], P. E. Verweij[2†], M. C. Arendrup[3†], S. Arikan-Akdagli[4†], J. Bille[5†], J. P. Donnelly[2†], H. E. Jensen[6†], C. Lass-Flörl[7†], M. D. Richardson[8†], M. Akova[9], M. Bassetti[10], T. Calandra[11], E. Castagnola[12], O. A. Cornely[13], J. Garbino[14], A. H. Groll[15], R. Herbrecht[16], W. W. Hope[17], B. J. Kullberg[2], O. Lortholary[18,19], W. Meersseman[20], G. Petrikkos[21], E. Roilides[22], C. Viscoli[23] and A. J. Ullmann[24] for the ESCMID Fungal Infection Study Group (EFISG)

Beta glucano

Beta glucano

Fungitell® (Associates of Cape Cod, Inc)

- Componente de la pared fúngica
- Alto nivel de detección (20 pg/ml)
- Común a muchos géneros de hongos:
  - *Aspergillus, Candida, Pneumocystis*

Beta glucano

Fungitell® (Associates of Cape Cod, Inc)

- Componente de la pared fúngica
- Alto nivel de detección (20 pg/ml)
- Común a muchos géneros de hongos:
  - *Aspergillus, Candida, Pneumocystis*

Técnica PAN-FÚNGICA

Beta glucano

Fungitell® (Associates of Cape Cod, Inc)

- Componente de la pared fúngica
- Alto nivel de detección (20 pg/ml)
- Común a muchos géneros de hongos:
  - *Aspergillus, Candida, Pneumocystis*

Técnica PAN-FÚNGICA

- NO: *Cryptococcus*, Mucorales
- Técnica laboriosa
- No distingue entre géneros
- Numerosos falsos positivos

Beta glucano

FALSOS POSITIVOS:

- ☑ Contaminación material laboratorio
- ☑ Bacteriemia CGP (Streptococcus) o BGN (Pseudomonas)
- ☑ Contacto con gasas y esponjas quirúrgicas
- ☑ Hemodiálisis con filtros de celulosa
- ☑ Tto IV con albúmina, Ig, factores coagulación
- ☑ Tto antibacteriano IV: Amoxi-clav, piper-tazo
- ☑ Tto antineoplásico: lentinano, polisacárido K

Valor PRONÓSTICO:

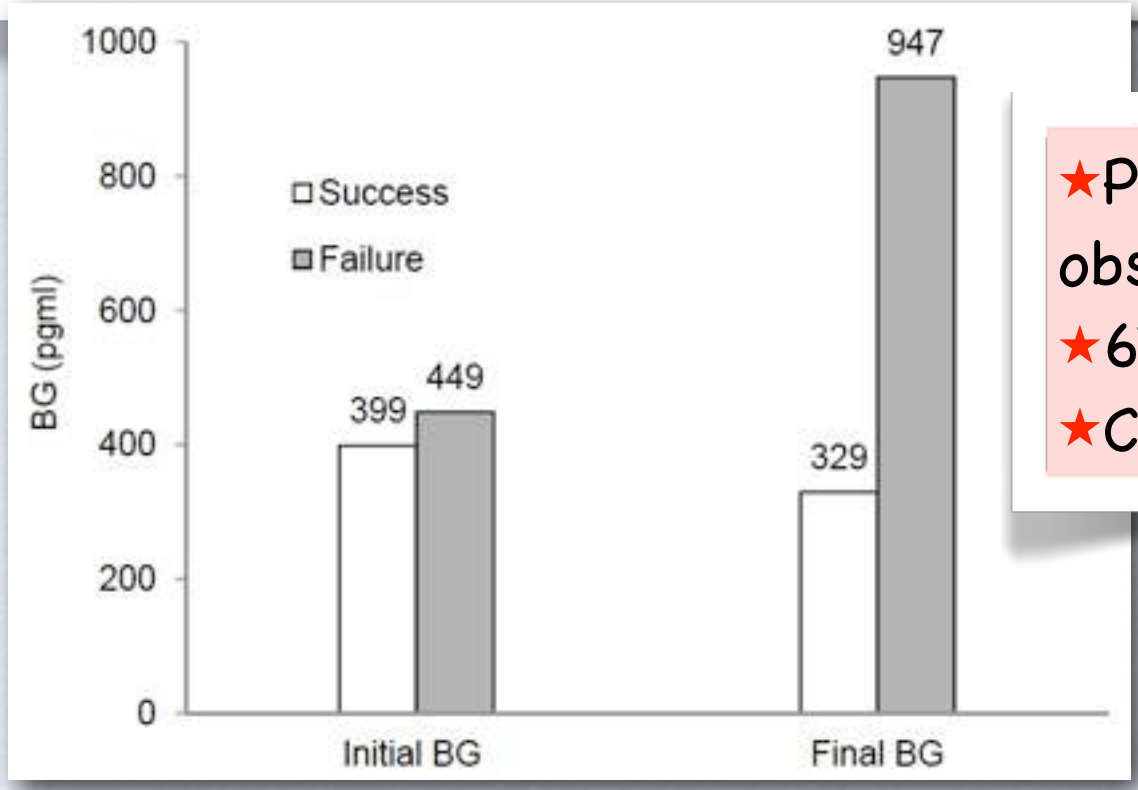
- ☑ ↓ BG = buen pronóstico

FALSOS NEGATIVOS:

- ☑ Sueros hiperpigmentados (bilirrubina, triglicéridos)
- ☑ Tto antifúngico (profilaxis, empírico)
- ☑ Azitromicina o pentamidina IV

Beta glucano

Correlation of Clinical Outcomes with β -glucan Levels in Patients with Invasive Candidiasis



Initial and Final β -glucan Levels in Successfully Treated Patients (n=60) and in Treatment Failures (n=7)

- ★Prospectivo, observacional, unicentro
- ★67 ptes con CI
- ★Cut-off: ≥60 pg/mL

Sims CR, J Clin Microbiol 2012; 49:58-61

Beta glucano

MAJOR ARTICLE

β-Glucan Antigenemia Assay for the Diagnosis of Invasive Fungal Infections in Patients With Hematological Malignancies: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies Fr the Third European Conference on Inf

Estudios: 6
IFI: 414

Lamoth F. Clin Infect Dis 2012; 54:633

Sensibilidad: 50-90%
Especificidad: 70-100%
VPN: 95%
Más útil en NO hematológicos (UCI)

Estudios: 16
IFI: 594

β-D-Glucan Assay for the Diagnosis of In Fungal Infections: A Meta-analysis

Drosos E. Karageorgopoulos,[1,2] Evridiki K. Vouloumanou,[1] Fotinie Ntziora,[1,2] Argyris Michalo
Petros I. Rafailidis,[1,4] and Matthew E. Falagas[1,4,5]

Clin Infect Dis 2011; 52:750

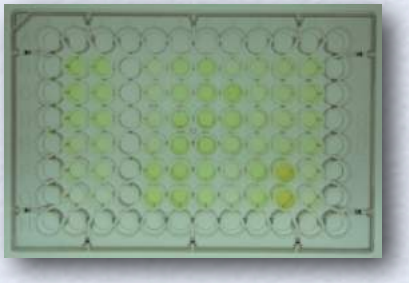
Beta glucano

Desventaja potencial:

- Su habilidad para detectar gran variedad de hongos es buena...
- ...Pero no ayuda cuando se necesita precisión diagnóstica

Paciente pediátricos:

- Interpretación más difícil
- BG en niños sanos es más elevado que en adultos sanos (*Candida* colonización?)



[Karageorgopoulos DE et al. Clin Infect Dis 2011, Lamoth F et al. Clin Infect Dis 2012, Acosta J et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2012]

Beta glucano

INDICACIONES y grado de EVIDENCIA:

- ☑ Aspergilosis invasora: AI
- ☑ Candidiasis invasora: BII
- ☑ Pneumocistosis: BII

Sugerencia de USO:

- ☑ Cada 3-4 días

MÉTODOS comercializados:

- ☑ Fungitell (EEUU)
- ☑ Wako WB003 (Japón)
- ☑ Fungitec G (Japón)
- ☑ B-G Star (Japón)

Puntos de corte:

- ☑ > 60-80 pg/mL (Fungitell)
- ☑ 7 pg/mL (Wako)

VALOR diagnóstico:

- ☑ Criterio micológico de micosis invasora (EORTC/MSG)
- ☑ Recomendaciones IDSA, ESCMID, SEIMC
- ☑ Más precoz que otras pruebas diagnósticas
- ☑ Combinado con GM o CAGTA: ↑ valor diagnóstico

Galactomanano

Galactomanano

CARACTERÍSTICAS

- Componente pared *Aspergillus*
- Detectado ELISA:
  - Suero, LBA, LCR y otros LO
  - Límite detección: 1 ng/mL
- Rápidamente aclarado células Kupffer → concentraciones ↑↓
- Punto corte: 0,5 (S, LCR), 1 (LBA)
- EORTC:
  - Criterio de IFI probable
- Sensibilidad: 30-100%
- Especificidad: ~ 90%
- Permite monitorizar evolución

Galactomanano

CARACTERÍSTICAS

- Componente pared *Aspergillus*
- Detectado ELISA:
  - Suero, LBA, LCR y otros LO
  - Límite detección: 1 ng/mL
- Rápidamente aclarado células Kupffer → concentraciones ↑↓
- Punto corte: 0,5 (S, LCR), 1 (LBA)
- EORTC:
  - Criterio de IFI probable
- Sensibilidad: 30-100%
- Especificidad: ~ 90%
- Permite monitorizar evolución

FALSOS POSITIVOS

- Niños (neonatos colon *Bifidobacterium*)
- EICH
- Alimentos (soja, pasta, cereales)
- Antibacterianos:
  - Piper-tazo, Amoxi-clav
- Reactividad cruzada:
  - *Penicillium, Paecilomyces, Alternaria, Cryptococcus*

Galactomanano

CARACTERÍSTICAS

- Componente pared *Aspergillus*
- Detectado ELISA:
  - Suero, LBA, LCR y otros LO
  - Límite detección: 1 ng/mL
- Rápidamente aclarado células Kupffer → concentraciones ↑↓
- Punto corte: 0,5 (S, LCR), 1 (LBA)
- EORTC:
  - Criterio de IFI probable
- Sensibilidad: 30-100%
- Especificidad: ~ 90%
- Permite monitorizar evolución

FALSOS POSITIVOS

- Niños (neonatos colon *Bifidobacterium*)
- EICH
- Alimentos (soja, pasta, cereales)
- Antibacterianos:
  - Piper-tazo, Amoxi-clav
- Reactividad cruzada:
  - *Penicillium, Paecilomyces, Alternaria, Cryptococcus*

FALSOS NEGATIVOS

- Aspergilosis localizada (TB)
- Infección x *A fumigatus*
- Profilaxis AF
- Tratamiento AF empírico

Galactomanano

CARACTERÍSTICAS

- Componente pared *Aspergillus*
- Detectado ELISA:
  - Suero, LBA, LCR y otros LO
  - Límite detección: 1 ng/mL
- Rápidamente aclarado células Kupffer → con
- Punto corte: 0
- EORTC:
  - Criterio de l
- Sensibilidad:
- Especificidad:
- Permite monit

FALSOS POSITIVOS

- Niños (neonatos colon *Bifidobacterium*)
- EICH
- Alimentos (soja, pasta, cereales)
- Antibacterianos:
  - Piper-tazo, Amoxi-clav
- Reactividad cruzada:
  icillium, Paecilomyces, rnaria, Cryptococcus

UTILIDAD

- Pacientes oncohematológicos adultos:
  - Neutropenia prolongada
  - Receptores TPH alogénico
    - SENS: 85%
    - ESP: 95%
- LBA > suero:
  - UCI ?
  - Tx pulmón ?

FALSOS NEGATIVOS

- Aspergilosis localizada (TB)
- Infección x *A fumigatus*
- Profilaxis AF
- Tratamiento AF empírico

Galactomanano

Diagnosis of Invasive Aspergillosis Using a Galactomannan Assay: A Meta-Analysis

Christopher D. Pfeiffer,[1] Jason P. Fine,[2] and Nasia Safdar[1]

Clin Infect Dis 2006, 42: 1417

Results. Twenty-seven studies from 1966 to 28 February 2005 were included. Overall, the galactomannan assay had a sensitivity of 0.71 (95% confidence interval [CI], 0.68–0.74) and specificity of 0.89 (95% CI, 0.88–0.90) for proven cases of invasive aspergillosis. The Youden index, mean *D*, and Q* were 0.54 (95% CI, 0.41–0.65), 2.74 (95% CI, 21.12–3.36), and 0.80 (95% CI, 0.74–0.86), respectively, indicating moderate accuracy. Subgroup analyses showed that the performance of the test differed by patient population and type of reference standard used. Significant heterogeneity was present.

Conclusions. The galactomannan assay has moderate accuracy for diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised patients. The test is more useful in patients who have hematological malignancy or who have undergone hematopoietic cell transplantation than in solid-organ transplant recipients. Further studies with attention to the impact of antifungal therapy, rigorous assessment of false-positive test results, and assessment of the utility of the test under nonsurveillance conditions are needed.

Sensibilidad:

- Niños: 76%
- Adultos: 73%
- TPH (80%) > Hematol (70%) > TOS (22%)

Especificidad:

- Niños: 86%
- Adultos: 90%

Galactomanano

La F

Documento de consenso

Recomendaciones sobre el diagnóstico de la enfermedad fúngica invasora de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) Actualización 2010

Ayats J, Enf Inf Microbiol Clin 2011, 29: 39

solo suero) y LBA (0,5-1) como una técnica de ayuda diagnóstica de la AI y como una herramienta de cribado para detectar anticipadamente la AI, durante los periodos de mayor riesgo en los enfermos onco-hematológicos adultos y receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos (A-I) (tabla 4). En estos pacientes, parece haber una correlación estrecha entre el GM sérico y el

de GM puede ser de utilidad, pero hasta el momento no existen suficientes datos que lo demuestren (B-II). Está sin definir la utilidad de la detección de GM en poblaciones de pacientes sin neutropenia, como los receptores de trasplante de órgano sólido (con excepción de los trasplantes de pulmón), los que padecen enfermedad granulomatosa crónica, los pacientes críticos, los infectados por el VIH o sida, etc.[66,69,72,73]

Galactomanano

Documento de consenso

Recomendaciones sobre el diagnóstico de la enfermedad fúngica invasora de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) Actualización 2010

Ayats J, Enf Inf Microbiol Clin 2011, 29: 39

solo suero) y LBA (0,5-1) como una técnica de ayuda diagnóstica de la AI y como una herramienta de cribado para detectar anticipadamente la AI, durante los periodos de mayor riesgo en los enfermos onco-hematológicos adultos y receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos (A-I) (tabla 4). En caso de que la respuesta clínica sea favorable[78,79] a pesar de que la respuesta clínica sea favorable[78,79]

La detección de GM en el LBA de pacientes onco-hematológicos con neutropenia tiene también un valor diagnóstico alto[74,75] y se han observado valores aceptables en pacientes críticos inmunodeprimidos[72] y en trasplantados de pulmón[80]. Por el contrario, los valores diagnósticos de la detección de GM en suero han

ciente [illegible] demuestren (B-II). Está sin definir la utilidad de la detección de GM en poblaciones de pacientes sin neutropenia, como los receptores de trasplante de órgano sólido (con excepción de los trasplantes de pulmón), los que padecen enfermedad granulomatosa crónica, los pacientes críticos, los infectados por el VIH o sida, etc.[66,69,72,73]

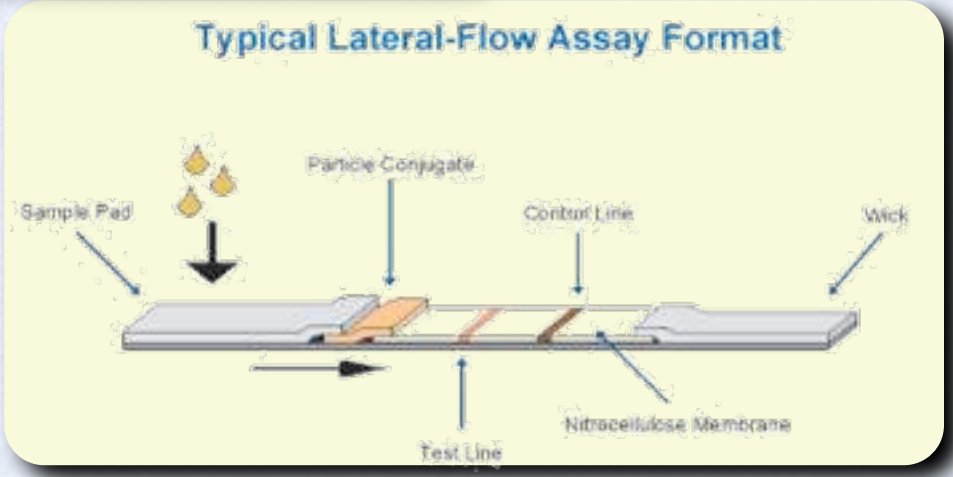
Aspergillus Lateral-Flow Device

Evaluation of Real-Time PCR, Galactomannan Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), and a Novel Lateral-Flow Device for Diagnosis of Invasive Aspergillosis

P. Lewis White,[a] Christian Parr,[a,b] Chr

Inmunocromatografía:

- Ac monoclonal JF5
- Sencilla
- Rápida (15 min)



	Sen %	Esp %
PCR	95	97
GM	77	91
L-FD	82	98
L-FD+PCR	100	100

J Clin Microbiol 2013; 51:1510

Manano y anti-manano

Platelia Candida Ag® y Platelia Candida Ab/Ac/Ak® (Bio-Rad)

Manano y anti-manano

Platelia Candida Ag® y Platelia Candida Ab/Ac/Ak® (Bio-Rad)

RESEARCH

14 estudios → 453 pacientes

The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia

Małgorzata Mikulska[1*], Thierry Calandra[2], Maurizio Sanguinetti[3], Daniel Poulain[4], Claudio Viscoli[5], the Third European Conference on Infections in Leukemia Group

Manano: S 58%, E 93%

Anti-manano: S 59%, E 83%

Crit Care 2010; 14:R222

Manano y anti-manano

Platelia Candida Ag® y Platelia Candida Ab/Ac/Ak® (Bio-Rad)

RESEARCH

14 estudios → 453 pacientes

The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia

Małgorzata Mikulska[1*], Thierry C...

the Third ... li[5],

Detección combinada:
Sensibilidad: 83%; Especificidad: 86%

Manano: S 58%, E 93%
Anti-manano: S 59%, E 83%

Crit Care 2010; 14:R222

Manano y anti-manano

Platelia Candida Ag® y Platelia Candida Ab/Ac/Ak® (Bio-Rad)

RESEARCH

The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia

Małgorzata Mikulska[1*], Thierry C... ...li[5], the Third

14 estudios → 453 pacientes

Detección combinada:
Sensibilidad: 83%; Especificidad: 86%

73% de CI, 6-7 días antes que el HC

Manano: S 58%, E 93%
Anti-manano: S 59%, E 83%

C. albicans > C. glabrata > C. tropicalis

Crit Care 2010; 14:R222

Manano y anti-manano

ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: diagnostic procedures

Sugerencia uso: 3-4 días

The combined detection of mannan and anti-mannan antibodies is considered to be a method for specific detection of *Candida* spp. in serum samples [9]. There is a combination of tests available [Platelia Candida Antigen Plus (Ag Plus™) and

control studies have proven their efficacy in the diagnosis of candidemia, with sensitivity and specificity rates around 80% and 85%, respectively, which translates into an accuracy of 50–70%. Serial determinations may be necessary. These assays can help to detect the infection early because they can be positive 6 days on average prior blood cultures. It shows also very high negative predictive value (>85%) and can be used to rule out infection. The panel considered the

Valor diagnóstico:

- Criterio micológico de CI probable (ESCMID y EORTC)
- Más precoz que otros tests

can be used to rule out infection. The panel considered the method as recommended for the diagnosis of candidaemia. It could be used as part of a diagnostic strategy to establish

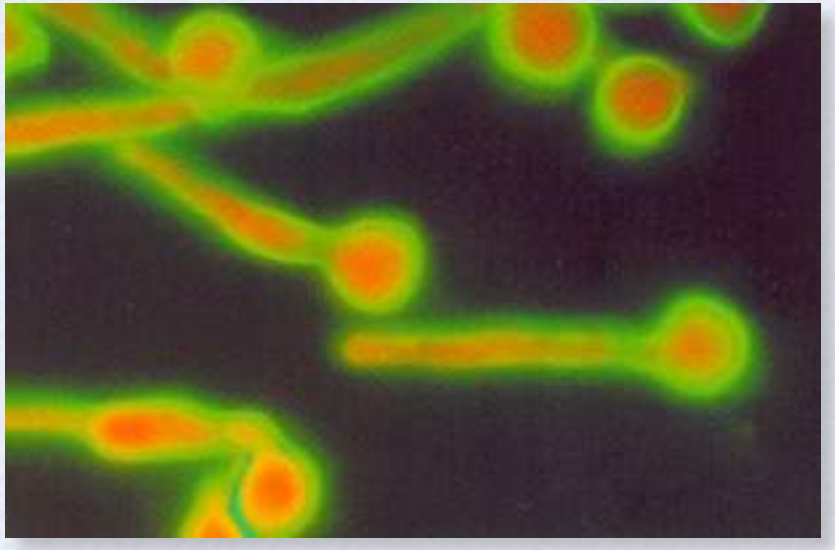
Cuenca-Estrella M. Clin Microbiol Infect 2012; 19:9

Ac antimicelio

C. albicans IFA IgG® (Vircell)

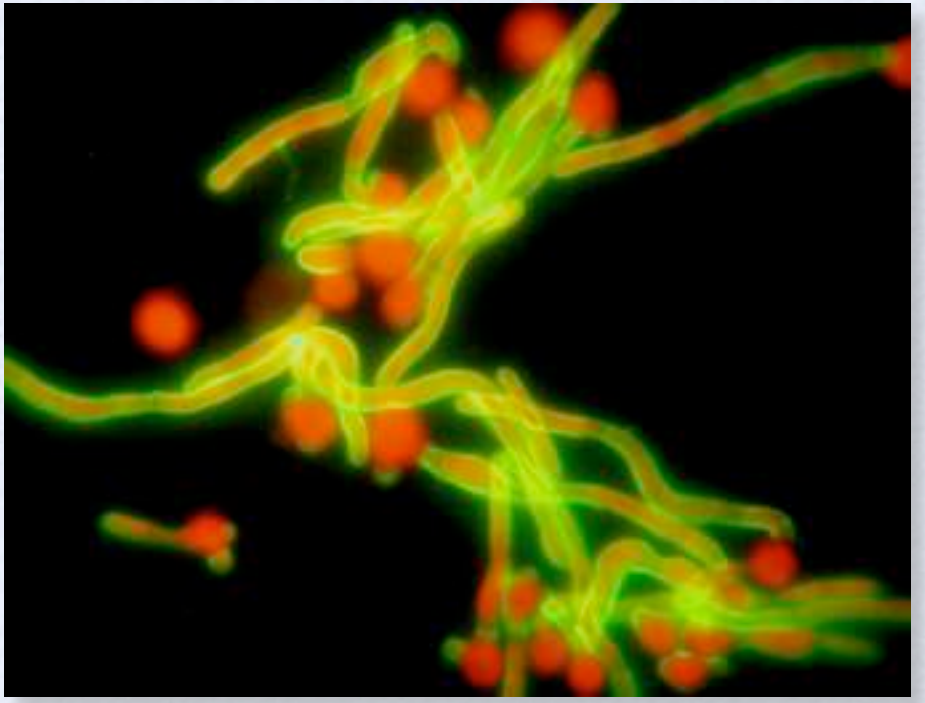
Inmunofluorescencia indirecta

Detección Anticuerpos Candidiasis invasora



Ac antimanano

+ en colonización e infección



Ac antimicelio

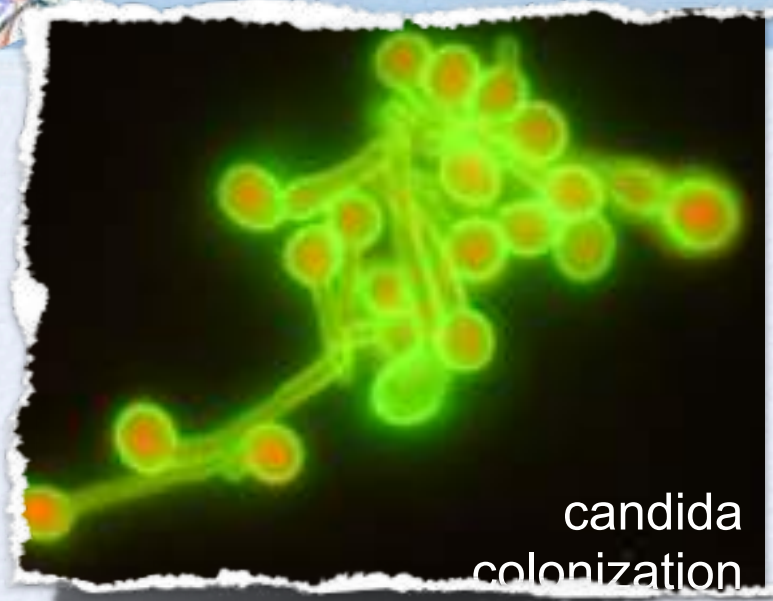
+ en infección

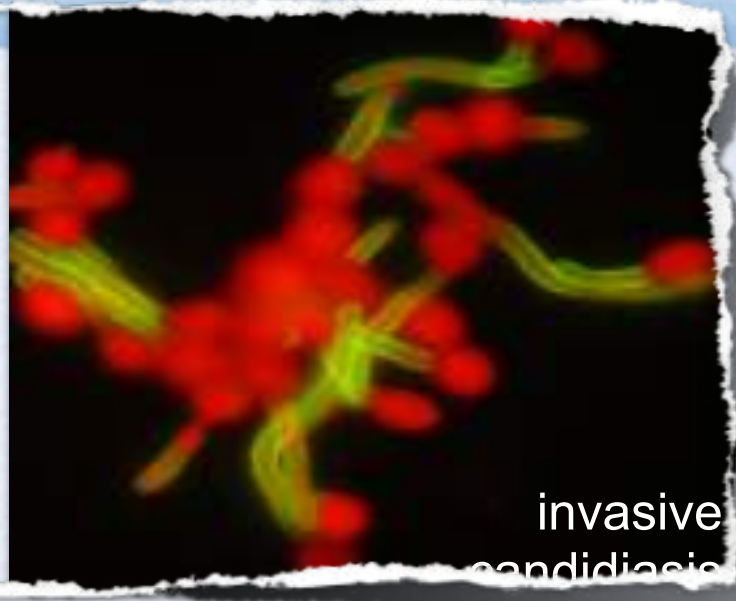
Ac antimicelio

C. albicans IFA IgG® (Vircell)

- ***C. albicans***
- ***C. tropicalis***
- ***C. parapsilosis***
- ***C. krusei***
- ***C. glabrata***
- ***C. guilliermondii***
- ***C. dubliniensis***

Ac antimicelio





- **SEN: 84,4%**
- **VPP: 96,4%**
- **ESP: 94,7%**
- **VPN: 78,3%**

Moragues D et al, Enf Infecc Microbiol Clin 2004; 22:83

- No afectado por alta colonización o tratamientos AF

Pemán J et al, BMC Infect Dis 2011;

Ac antimicelio

Valor diagnóstico:

- Más precoz que otros tests
- Combinación con BG ↑ Dx
- Positivo: >1/160

Sugerencia uso: 4-7 días

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], ... Emeterio[b]

Enf Infecc Microbiol Clin 2004; 22:83

RESEARCH ARTICLE — Open Access

Clinical factors associated with a *Candida albicans* Germ Tube Antibody positive test in Intensive Care Unit patients

Javier Pemán[1*], Rafael Zaragoza[2], Guillermo Quindós[3], Miriam Alkorta[4], María S Cuétara[5], Juan J Camarena[6], Paula Ramírez[7], María J Giménez[1], Estrella Martín-Mazuelos[8], María ... the study group Candida albicans Germ Tube Antibody Detection

BMC Infect Dis 2011; 11:22

Clinical significance of the detection of *Candida albicans* germ tube-specific antibodies in critically ill patients

R. Zaragoza[1], J. Pemán[2], G. Quindós[3], J. R. Iruretagoyena[4], M. S. Cuétara[5], P. Ramírez[6], M. D. Gómez[2], J. J. Camarena[7], ... des[2] and J. Pontón[3], on behalf of the study group ... *a albicans* Germ Tube Antibody Detection in ... lly Ill Patients

Clin Microbiol Infect 2009; 15:592

Kinetic Patterns of *Candida albicans* Germ Tube Antibody in Critically Ill Patients: Influence on Mortality[▽]

Rafael Zaragoza,[1*] Javier Pemán,[3] Guillermo Quindós,[5] Jose R. Iruretagoyena,[6] María S. Cuétara,[7] Paula Ramírez,[4] Maria D. Gómez,[3] Juan J. Camarena,[2] Angel Viudes,[3] and José Pontón[5] ... *ida albicans* Germ Tube Antibody Detection in ... Patients (CAGTAUCI) Study Group†

Clin Vac Inmunol 2009; 11:1527

Antibodies to *Candida albicans* germ tubes in two intensive care patients with invasive candidiasis

Jose Ramón Iruretagoyena[1], P... José Pontón[3]

Rev Iberoam Micol 2000; 17:93

Diagnostic potential of (1→3)-ß-D-glucan and anti-*Candida albicans* germ tube antibodies for the diagnosis and therapeutic monitoring of invasive candidiasis in neutropenic adult patients

Carmen Pazos[1], María-Dolor... José Pontón[3] and Amalia del ...

Rev Iberoam Micol 2006; 23:209

AGENDA

1. Examen microscópico directo
2. Cultivo micológico
3. **Detección de:**
   - Antígenos
   - Componentes no antigénicos
   - Anticuerpos
   - **Ácidos nucleicos**

Ácidos nucleicos

Meta-análisis PCR en sangre/plasma/suero en CI y AI:

Sensibilidad: 99%; **Especificidad:** 60-90%

[Tuon FF. Rev Iberoam Micol 2007
Johnson GL et al. PLoS One 2012]

Ácidos nucleicos

Meta-análisis PCR en sangre/plasma/suero en CI y AI:

Sensibilidad: 99%; **Especificidad:** 60-90%

VPN: 88-100%; **VPP:** muy variable

Más útil para **descartar** una EFI que para confirmarla

[Tuon FF. Rev Iberoam Micol 2007
Johnson GL et al. PLoS One 2012]

Ácidos nucleicos

Meta-análisis PCR en sangre/plasma/suero en CI y AI:

Sensibilidad: 99%; **Especificidad:** 60-90%

VPN: 88-100%; **VPP:** muy variable

Más útil para **descartar** una EFI que para confirmarla

Ventajas:

- Detecta múltiples especies en una sola muestra
- Monitorización terapéutica

[Tuon FF. Rev Iberoam Micol 2007
Johnson GL et al. PLoS One 2012]

Ácidos nucleicos

Meta-análisis PCR en sangre/plasma/suero en CI y AI:

Sensibilidad: 99%; **Especificidad:** 60-90%

VPN: 88-100%; **VPP:** muy variable

Más útil para **descartar** una EFI que para confirmarla

Ventajas:
- Detecta múltiples especies en una sola muestra
- Monitorización terapéutica

Limitaciones:
- Falta de estandarización y validación (métodos y resultados)

[Tuon FF. Rev Iberoam Micol 2007
Johnson GL et al. PLoS One 2012]

Ácidos nucleicos

Candidiasis invasora

- Técnicas caseras (in-house)
  - Múltiplex, anidada, tiempo real…
- Técnicas comercializadas:
  - SeptiFast™ (Roche)
  - MagicPlex™ Sepsis (Seegen, IZASA)
  - FilmArray™ (BioFire DX)

Ácidos nucleicos

MagicPlex™ (Izasa)

Screening de más de 90 patógenos causales de Sepsis en 2+3 horas

Extracción sangre
≥ 2 h incubación

→

Extracción DNA
40 min

→

Amplificación
2h 10 min

Transferencia Amplicons a tubos detección

→

Detección para Screening
15 min

Screening

- 73 Gram(+) bacteria
- 12 Gram(-) bacteria
- 6 Fungi
- 3 Drug resistance

↓

Magicplex™ Sepsis Real-time Detección

Fungi

C. albicans
C. tropicalis
C. parapsilosis

C. glabrata
C. krusei
A. fumigatus

Ácidos nucleicos

FilmArray™ (BioFire DX)

Screening de 24 patógenos causales de Sepsis en 1 hora

Sangre total (>4ml)

Líquidos estériles (máx. disponible hasta 10 ml)

Incubación (12h)
*según volumen muestra

Extracción+Amplificación+Detección HRM (1h)

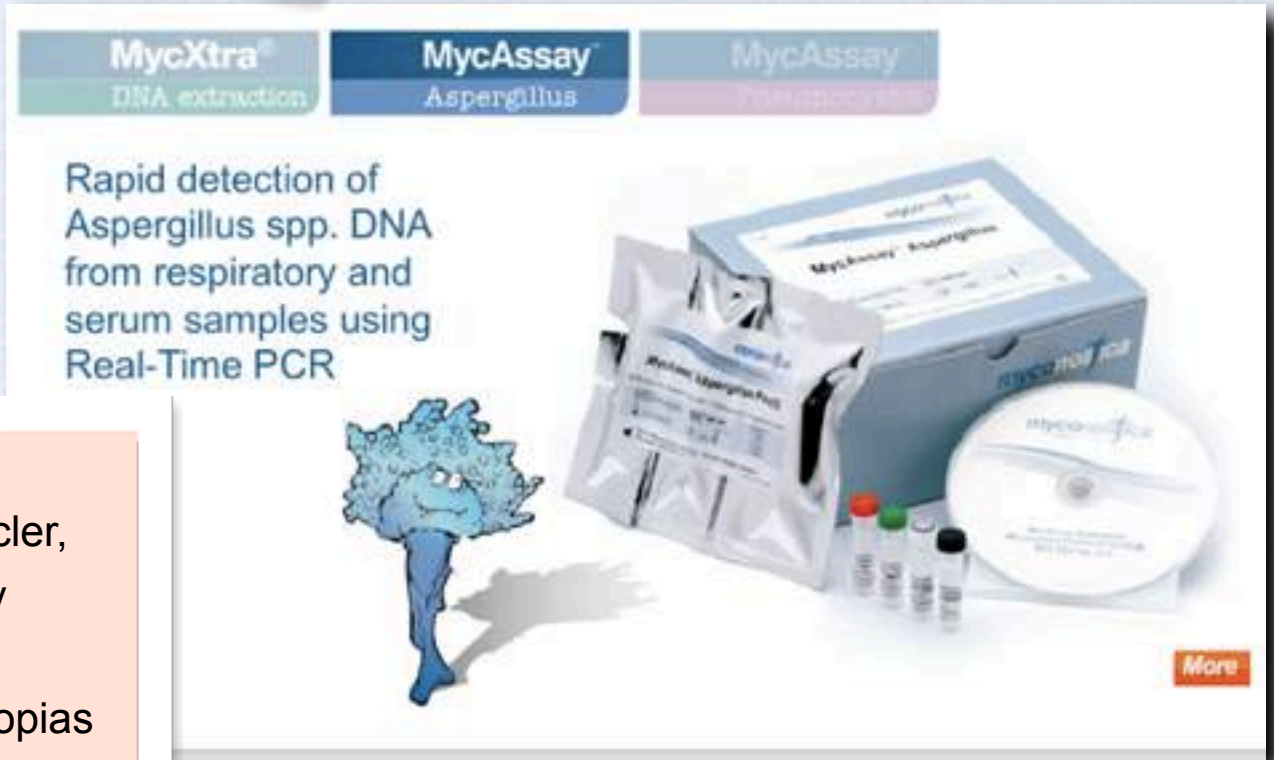
El 90% de las infecciones bacterianas y candidiásicas graves son debidas a:

Gram + Bacteria	Gram - Bacteria	Fungi	Antibiotic Resistance*
Staphylococcus	*Enterobacteriaceae*	*Candida albicans*	*mecA*
Staphylococcus aureus	*Enterobacter cloacae complex*	*Candida glabrata*	*vanA / vanB*
Streptococcus	*Escherichia coli*	*Candida krusei*	*KPC*
Streptococcus agalactiae	*Klebsiella oxytoca*	*Candida parapsilosis*	
Streptococcus pyogenes	*Klebsiella pneumoniae*	*Candida tropicalis*	
Streptococcus pneumoniae	*Serratia*		
Enterococcus	*Proteus*		
Listeria monocytogenes	*Acinetobacter baumannii*		
	Haemophilus influenzae		
	Neisseria meningitidis		
	Pseudomonas aeruginosa		

Ácidos nucleicos

MycAssay™ Aspergillus (Mycognostica, UK)

Aspergilosis invasora



- **CE Mark (2008)**
- Validado para SmartCycler, AB7500, LightCycler 2.0 y Stratagene Mx3000
- Límite detección: <50 copias
- Punto corte clínico
- Resultados en 2,5 h

Resumiendo ...

	Sens (%)	Espec (%)	Pros	Contras
β-glucano	70-100	87-96	S, VPP ↑↑, Monitorización	FP, metodología
Mn + anti-Mn	60-89	80-84	S y E ↑↑	Experiencia ↓
Antimicelio	77-89	91-100	E ↑↑, Monitorización	Experiencia ↓
Galactomanano	30-100	90-95	E ↑↑, VPN ↑↑ Monitorización	FP
Ac nucleicos	90	100	E ↑↑	Pocos comercializados
Combinación	87	100	S, E y VPP ↑↑, Monitorización	Coste ↑↑↑
Cultivo	50	100	Gold standard Est. sensibilidad AF	S ↓↓, lentitud

Diagnóstico alternativo

GRADO RECOMENDACIÓN

CANDIDIASIS:

* (1-3)-β-D glucano → A-I
* Ag manano + Ac anti-manano → B-II
* Ac anti-micelio → B-II
* Ácidos nucleicos → B-II

GEMICOMED. Enferm Infecc Microbiol Clin 2011, 29: e1–15

Diagnóstico alternativo

GRADO RECOMENDACIÓN

ASPERGILOSIS:

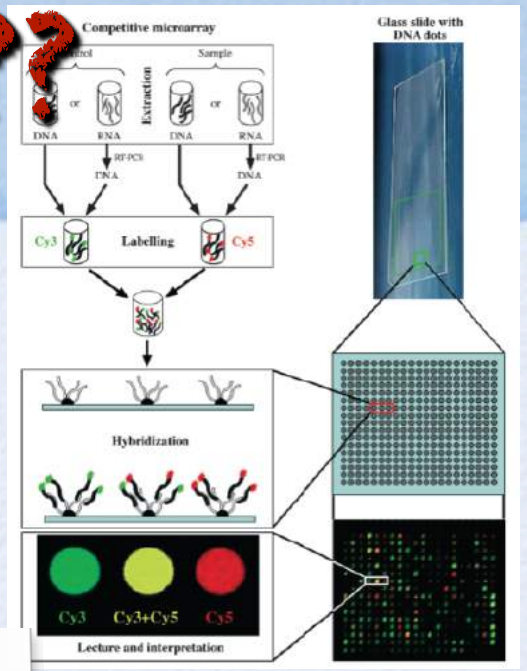
* (1-3)-β-D glucano → A-I
* Galactomanano:
  - ☑ Suero / LBA (pte hematológico) → A-I
  - ☑ Suero / LBA / LCR (otros ptes) → B-II
* Ácidos nucleicos → B-II
* Ácidos nucleicos → B-II

GEMICOMED. Enferm Infecc Microbiol Clin 2011, 29: e1–15

... y el futuro ???

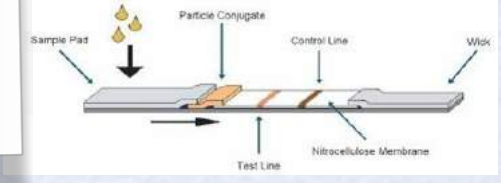
Combinación de 2 o más métodos:

- ☑ PCR + GM
  - ☑ GM + BG
    - ☑ CAGTA + BG



Nuevas técnicas:

- LFD *Cryptococcus*
- Detección Ag y Ac (*Candida* y *Aspergillus*)
- PCR comercializadas
- MALDI-TOF "directo" hemocultivo
- Microarrays, Microchips
- Biosensores
- ....



MAJOR ARTICLE

Impact of Rapid Organism Identification via Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Combined With Antimicrobial Stewardship Team Intervention in Adult Patients With Bacteremia and Candidemia

Angela M. Huang,[1,2] Duane Newton,[5,6] Anjly Kunapuli,[1,2] Tejal N. Gandhi,[3] Laraine L. Washer,[3,4] Jacqueline Isip,[1,2] Curtis D. Collins,[1,2] and Jerod L. Nagel[1,2]

Results. A total of 501 patients with bacteremia or candidemia were included in the final analysis: 245 patients in the intervention group and 256 patients in the preintervention group. MALDI-TOF with AST intervention decreased time to organism identification (84.0 vs 55.9 hours, $P < .001$), and improved time to effective antibiotic therapy (30.1 vs 20.4 hours, $P = .021$) and optimal antibiotic therapy (90.3 vs 47.3 hours, $P < .001$). Mortality (20.3% vs 14.5%), length of intensive care unit stay (14.9 vs 8.3 days) and recurrent bacteremia (5.9% vs 2.0%) were lower in the intervention group on univariate analysis, and acceptance of an AST intervention was associated with a trend toward reduced mortality on multivariable analysis (odds ratio, 0.55, $P = .075$).

Conclusion. MALDI-TOF with AST intervention decreased time to organism identification and time to effective and optimal antibiotic therapy.

Clin Infect Dis 2013: 57:1237-45

¡¡ Muchas gracias !!