

¿Es útil la detección de ácidos nucleicos en el diagnóstico de la aspergilosis invasora?

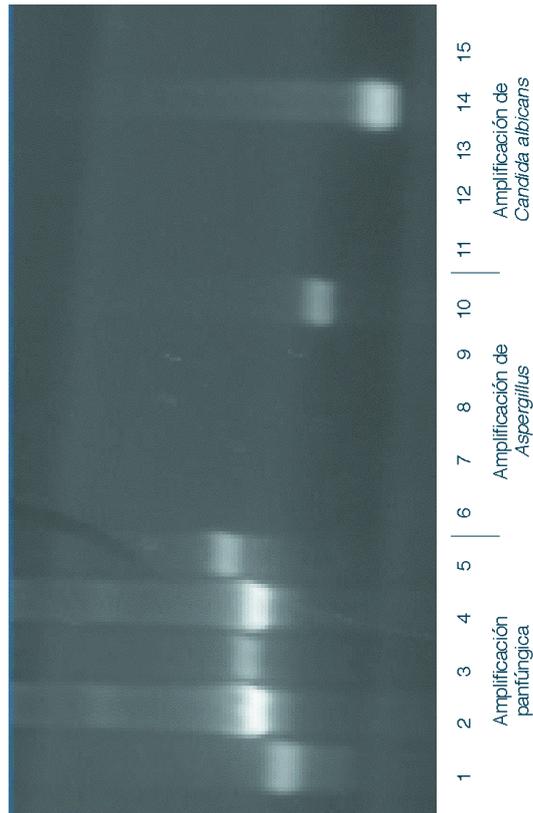
José Pontón
Guillermo Quindós

En la última década se han desarrollado técnicas para la detección de ADN de *Aspergillus* mediante la reacción en cadena de la polimerasa, aunque al no existir todavía técnicas comercializadas, no se han implantado de forma rutinaria en el laboratorio asistencial [1,2].

La característica más importante de la reacción en cadena de la polimerasa es su enorme sensibilidad, que permite la detección de concentraciones muy pequeñas, 1–10 fg (10^{-15} - 10^{-14} g) de ADN fúngico ó 1-5 unidades formadoras de colonias por mililitro, lo que hace que sea unas 20 veces más sensible que el cultivo. La técnica permite la detección de secuencias de ADN específicas del género *Aspergillus* o incluso de especie (reacción en cadena de la polimerasa específica) y la detección de secuencias ADN comunes a todos los hongos (reacción en cadena de la polimerasa panfúngica) (Figura). Puesto que ambas posibilidades tienen interés diagnóstico, es probable que en el futuro puedan utilizarse de forma combinada.

Aunque se puede detectar ADN fúngico en la mayoría de las muestras clínicas, las muestras respiratorias pueden presentar problemas para su estudio por la reacción en cadena de la polimerasa porque es difícil diferenciar al portador asintomático o transitorio de *Aspergillus* spp. del que presenta una aspergilosis invasora. La cuantificación de la carga fúngica mediante la realización de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real puede ayudar a solucionar este problema. La muestra más utilizada es la sangre entera puesto que la sensibilidad de la reacción en cadena de la polimerasa en el plasma es menor.

Figura. Reacción en cadena de la polimerasa panfúngica y específica, mediante la amplificación de las secuencias ITS1-ITS4 (calles 1 a 5), AFUM1-AFUM2 (calles 6 a 10) y CALB1-CALB2 (calles 11 a 15) descritas por Luo y Mitchell [3]. Calles (indicando la especie correspondiente): 1, 6 y 11. *Geotrichum candidum*; 2, 7 y 12. *Trichosporon asahii*; 3, 8 y 13. *Candida dubliniensis*; 4, 9 y 14. *Candida albicans*; 5, 10 y 15. *Aspergillus fumigatus*; Cortesía de M. Villar.



©2003 Revista Iberoamericana de Micología

Al no existir técnicas comercializadas, los estudios realizados presentan una variabilidad que dificulta la comparación de resultados. Sin embargo, los estudios de la [tabla](#) ponen en evidencia que el diagnóstico de la aspergilosis invasora por la reacción en cadena de la polimerasa puede ser una alternativa interesante en un futuro próximo. La cuantificación de la carga fúngica mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real puede ser también muy útil como herramienta de monitorización del tratamiento antifúngico, ya que en los pacientes con aspergilosis invasora que tienen una respuesta favorable al tratamiento desciende el número de muestras positivas por la reacción en cadena de la polimerasa, lo que no sucede en ausencia de respuesta.

Tabla. Utilidad diagnóstica de la detección de ADN por la reacción en cadena de la polimerasa en el diagnóstico de la aspergilosis invasora

Muestra clínica	S	E	VPP	VPN
Sangre	100	65	15	100
Sangre	100	100	100	100
Sangre	79	92	-	-
LBA	80	93	38	99
LBA	93,9	94,4	83,8	98,1

Los valores se expresan en porcentajes
 S: sensibilidad; E: especificidad
 VPP: Valor predictivo positivo
 VPN: Valor predictivo negativo
 LBA: Lavado broncoalveolar

Actualmente no está claro si la detección de ADN es más sensible que la detección de galactomanano en el diagnóstico de la aspergilosis invasora, puesto que se han publicado resultados contradictorios. También debe de aclararse en estudios futuros la cinética del ADN fúngico en la sangre del paciente, un dato esencial para establecer la periodicidad de obtención de las muestras clínicas.

Referencias

1. Chen SC, Halliday CL, Meyer W. A review of nucleic acid-based diagnostic tests for systemic mycoses with an emphasis on polymerase chain reaction-based assays. *Med Mycol* 2002;40:333-357.
2. del Palacio A, Cuétara MS, Pontón J. El diagnóstico de laboratorio de la aspergilosis invasora. *Rev Iberoam Micol* 2003; 20: 90-98.
3. Luo G, Mitchell T. Rapid identification of pathogenic fungi directly from cultures by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2860-2865.