

## UNA PRUEBA DE LATEX EN LAMINA PARA EL DIAGNOSTICO DE LA PARACOCCIDIOIDOMICOSIS<sup>1</sup>

Dras. Angela Restrepo<sup>2</sup> y Luz H. Moncada<sup>3</sup>

*Para el diagnóstico serológico de la paracoccidiodomicosis se empleó una prueba de aglutinación con látex. Dos de los cuatro antígenos utilizados, los productos derivados de la fase levadura, ofrecieron buenas perspectivas. La sensibilidad osciló entre 60.8 y 69.5%; entre las muestras positivas, más del 70.0% dieron títulos altos. Las reacciones cruzadas con los sueros de casos de histoplasmosis fueron prominentes y no pudieron distinguirse de las reacciones homólogas. En los enfermos de tuberculosis se observaron algunas reacciones positivas no específicas; los testigos normales no reaccionaron cuando el suero fue diluido al 1:16 ó más.*

### Introducción

Las pruebas serológicas son muy valiosas para el diagnóstico y la observación ulterior de los enfermos con paracoccidiodomicosis (1, 2). En la actualidad se emplean con preferencia dos procedimientos: el de inmunodifusión en agar (ID) y el de fijación del complemento (FC). Pero, desafortunadamente, son muy pocos los laboratorios de las zonas endémicas de América Latina que practican estas pruebas, probablemente debido a insuficientes instalaciones o a falta de personal capacitado. Si pudiera disponerse de una técnica más simple, como la de látex, un mayor número de hospitales tratarían de practicarla y de esta manera se aumentaría la cobertura diagnóstica.

Las pruebas del látex se han empleado satisfactoriamente para otros trastornos micóticos, como criptococosis (3), candidiasis (4),

histoplasmosis (5, 6), coccidiodomicosis (7) y esporotricosis (8).

Este informe presenta los resultados obtenidos con varias preparaciones látex-paracoccidiodina, determina su sensibilidad y especificidad y compara sus posibilidades diagnósticas con las de pruebas serológicas ya establecidas.

### Material y métodos

**Sueros.** Se obtuvieron muestras de pacientes con micosis comprobadas, como sigue: 69 con paracoccidiodomicosis; 23 con histoplasmosis; 14 con aspergilosis (aspergiloma) y 16 con otras micosis; cuatro sueros en este último grupo resultaron inadecuados para la prueba debido a la formación de acúmulos con el látex insensibilizado. También se estudiaron 100 enfermos de tuberculosis y 100 donantes de sangre aparentemente sanos.

Las muestras de suero se conservaron en mertiolato a 1:10,000 y se mantuvieron a 4°C o en estado de congelación (-20°C), según la fecha de obtención. Todos los sueros fueron inactivados (56°C, durante 30 minutos) antes de su empleo.

<sup>1</sup> Este trabajo contó con el apoyo de la Unidad de Promoción y Coordinación de Investigaciones de la Organización Panamericana de la Salud, Washington, D.C.

<sup>2</sup> Dirección actual: Corporación de Investigaciones Biológicas (CIB), y Hospital "Pablo Tobón Uribe", Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> Laboratorio de Micología, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

**Antígenos.** Se utilizaron cuatro clases de mezclas de antígenos tipo filtrado, preparados a partir de tres cepas de *P. brasiliensis* (B 339, B 341, C 81), de acuerdo con los procedimientos ya descritos (9). Se emplearon las fases levaduriforme y miceliar tanto como filtrados crudos y como fracciones precipitadas (tratadas) con etanol. Los antígenos crudos se designaron CL y CM y los tratados FEL y FEM; la "L" representaba la levadura y la "M" la fase miceliar. Los antígenos crudos se titularon inicialmente en las pruebas de FC e ID y demostraron ser reactivos (1).

**Partículas de látex.** Como portador del antígeno se empleó una preparación comercial de partículas de látex poliestireno de tamaño uniforme (0.8 micrones, Laboratorios Difco, Detroit, Michigan). Se preparó una suspensión de trabajo al 1:100 en agua destilada y se filtró (10). Antes de su empleo la solución se estandarizó mediante la preparación de una dilución al 1:200 en solución salina tamponada adicionada de glicina (pH 8.4); la lectura de su densidad óptica (DO) se efectuó en un fotocolorímetro Leitz (Fotómetro, modelo M) a 650 Um., considerándose como adecuada si la DO era de  $0.28 \pm 0.2$  (11). La suspensión de látex a 1:100 se almacenó a 4°C.

**Sensibilización de las partículas de látex.** Para ello se mezclaron volúmenes iguales de las partículas de látex estandarizadas y varias diluciones (1:2-1:100) de cada preparación antigénica; para facilitar la interacción, las mezclas se dejaron durante una hora a 37°C al baño María, agitándolas con frecuencia. Luego se lavaron con la solución salina tamponada con glicina, se recogieron mediante centrifugación a alta velocidad, volviendo a suspenderse al volumen original con solución tamponada fresca (4).

Se efectuaron titulaciones en bloque, utilizando partículas sensibilizadas y suero humano procedente de un caso con paracoccidiodomicosis comprobada; tal suero se

diluyó seriadamente en la misma solución tamponada. Sirvieron de testigo partículas de látex no sensibilizadas y un suero negativo. La prueba se efectuó de acuerdo con las instrucciones de Carlisle y Saslaw (12). La concentración óptima de las partículas sensibilizadas fue la mayor dilución que produjo una aglutinación clara y compacta (3 +) con la dilución más alta, aún reactiva, del suero testigo. Las concentraciones óptimas fueron las siguientes CL = 1:12; CM = 1:20; FEL = 1:40 y FEM = 1:30. Los reactivos látex-paracoccidiodina se mantuvieron a 4°C cuando no estaban en uso.

**Prueba de látex-paracoccidiodina.** La prueba se practicó en una placa de vidrio mediante la adición de 0.025 ml del reactivo látex-paracoccidiodina en estudio, a 0.050 ml de suero (inicialmente diluido a 1:8), y rotando los reactivos a 150 rpm durante 10 minutos. Se consideró como positiva una reacción (3 + a 4 +) cuando se observaban acúmulos grandes, bien definidos, en un líquido transparente. El tamaño de los acúmulos determinó el grado de la reacción como de 3 + ó de 4 +. Cuando el suero resultaba positivo a la dilución de 1:8, se procedía con otras diluciones (1:16-1:28) y el título de anticuerpos se registraba como la mayor dilución del suero que presentara reacción positiva. En todos los casos se incluyeron sueros testigos positivos y negativos conocidos; además todos los sueros se ensayaron en presencia de partículas de látex no sensibilizadas.

**Otras pruebas serológicas.** Se estudiaron los sueros de los pacientes con diversas micosis mediante las pruebas estándar de FC (13) e ID, utilizando antígenos derivados de *P. brasiliensis* (1) y, según el caso, también con antígenos de *Histoplasma capsulatum* y *Aspergillus fumigatus* (14).

Los sueros de enfermos de tuberculosis y de donantes de sangre fueron estudiados solamente por la prueba ID con antígeno de *P. brasiliensis*.

**CUADRO 1—Resultados de la prueba látex-paracoccidioidina con sueros de pacientes con paracoccidioidomicosis.**

		Resultados de la prueba con:											
Categoría de los pacientes	No. de sueros procesados	Antígenos tipo levadura				% Sensibilidad <sup>a</sup>		Antígenos tipo miceliar				% Sensibilidad <sup>a</sup>	
		Tratado con etanol				Tratado con etanol		Tratado con etanol				Tratado con etanol	
		Crudo				Crudo		Crudo				Crudo	
		+ <sup>b</sup>	- <sup>c</sup>	+	-			+	-	+	-		
Activos En tratamiento	46	32	14	28	18	69.5	60.8	29	17	34	12	63.0	73.9
	54	34	20	34	20	63.0	63.0	10	44	40	14	18.5	74.0
Total	100	66	34	62	38	66.0	62.0	39	61	74	26	39.0	74.0

<sup>a</sup> Reacciones específicas positivas con antígenos homólogos.<sup>b</sup> Reacciones fuertes (3 a 4 +) = grandes acúmulos suspendidos en un líquido translúcido.<sup>c</sup> Reacciones débiles (1 a 2 +) = pequeños acúmulos suspendidos en un líquido translúcido.**Resultados**

Se determinó la sensibilidad y especificidad relativas de los cuatro reactivos látex-paracoccidioidina para el diagnóstico de la paracoccidioidomicosis, mediante el ensayo

de 100 muestras de suero obtenidas de 69 casos de la enfermedad.<sup>3</sup> De estas muestras, 46 correspondían a la fecha del diagnóstico

<sup>3</sup> Otras 37 muestras resultaron insatisfactorias para la prueba debido a que producían acúmulos en presencia de partículas de látex no sensibilizadas.

**CUADRO 2—Resultados de la prueba látex-paracoccidioidina con sueros de pacientes con varias enfermedades micóticas.**

		Resultados de la prueba con:											
Categoría de los pacientes	No. de sueros procesados	Antígenos tipo levadura				% Sensibilidad <sup>a</sup>		Antígenos tipo miceliar				% Sensibilidad <sup>a</sup>	
		Tratado con etanol				Tratado con etanol		Tratado con etanol				Tratado con etanol	
		Crudo				Crudo		Crudo				Crudo	
		+	-	+	-			+	-	+	-		
Histoplasmosis	32	15	17	11	21	46.8	34.7	16	16	20	12	50.0	62.5
Aspergilosis	19	9	10	3	16	47.3	15.7	5	14	8	11	26.3	42.1
Esporotricosis	8	1	7	2	6	12.5	25.0	0	8	7	1	0.	87.5
Candidiasis generalizada	5	0	5	3	2	0.	60.0	0	5	4	1	0.	80.0
Coccidioido- micosis	3	2	1	1	2	66.6	37.3	2	1	2	1	66.6	66.6
Total	67	27	40	20	47	40.3	29.8	23	44	41	26	34.3	61.2

<sup>a</sup> Reacciones cruzadas o positivas falsas con antígenos heterólogos.

y 54 a fases posteriores del tratamiento. En el grupo de enfermos de otras micosis se estudiaron 67 sueros. En total fueron procesados 367 sueros, incluidos los casos de tuberculosis y los donantes de sangre. En cuanto a la sensibilidad, los resultados indicaron (cuadro 1) que más del 60.0% de los pacientes con paracoccidioidomycosis podían detectarse con tres de las cuatro preparaciones látex-antígeno, siendo la excepción los pacientes tratados, los que en la prueba con el antígeno CM, mostraron un grado menor de reactividad (18.5%). El CL fue ligeramente superior al FEL, 69.5% en comparación con 60.8% de reacciones positivas, respectivamente. Estas dos preparaciones produjeron resultados idénticos en los pacientes sometidos a tratamiento. Con los antígenos miceliares el FEM produjo un mayor número de reacciones positivas con los sueros de ambas categorías de pacientes (63.0% activos, 73.9% tratados). Independientemente de la actividad del proceso micótico, la mayor sensibilidad se obtuvo con FEM (74.0%), seguido de CL (66.0%), FEL (62.0%) y CM (39.0%).

La especificidad de los cuatro reactivos látex-paracoccidioidina se determinó mediante el ensayo de tres grupos distintos de individuos, a saber, pacientes con otras micosis, casos de tuberculosis y testigos normales. En el cuadro 2 se resumen los resultados del primero de estos grupos. En una proporción considerable de los pacientes con diversas micosis, se detectaron reacciones cruzadas; se observaron respuestas negativas ocasionales, como las presentadas por los sueros de pacientes con candidiasis al ser sometidos a la prueba con ambos antígenos crudos. Concentrando la atención en la histoplasmosis, las reacciones cruzadas, aunque notorias, fueron inferiores con las preparaciones tipo levadura (CL = 46.8%, FEL = 34.7%) que con los antígenos miceliares (CM = 50.0%, FEM = 62.5%).

A juzgar por los resultados presentados en el cuadro 3 y en conjunto, la sensibilidad fue un poco mejor en los otros dos grupos testigos. Con los antígenos levadura se detectaron reacciones falsas positivas en el 18.5% (CL) y el 24.5% (FEL) de los casos de tuberculosis y de los donantes de sangre, respec-

**CUADRO 3**—Resultados de los reactivos de látex-paracoccidioidina con sueros de casos de tuberculosis y de donantes de sangre sanos.

Categoría del individuo		Resultados de la prueba con:											
		Antígenos tipo levadura				% Especificidad <sup>a</sup>		Antígenos tipo miceliar				% Especificidad <sup>a</sup>	
		Tratado con etanol				Tratado con etanol		Tratado con etanol				Tratado con etanol	
		Crudo				Crudo		Crudo				Crudo	

**CUADRO 4—Resumen de la sensibilidad y la especificidad de la prueba látex-paracoccidioidina según el tipo de antígeno.**

Tipo de antígeno	% de sensibilidad en casos de paracoccidioidomicosis		% de especificidad en los casos de:		
	Activos	Tratados	Histo-plas-mosis	Otras micosis	Tuberculosis y donantes de sangre
Levadura cruda	69.5	63.0	46.8	34.3	18.5
Levadura tratada con etanol	60.8	63.0	34.7	25.7	24.5
Micelio crudo	63.0	18.5	50.0	20.0	17.0
Micelio tratado con etanol	73.9	74.0	62.5	60.0	51.0

tivamente. Las cifras correspondientes para los antígenos miceliares fueron 17.0% (CM) y 51.0% (FEM). Con una sola excepción (donantes de sangre y antígeno FEL), el porcentaje de individuos reactivos fue muy semejante en ambos grupos.

El cuadro 4 contiene un resumen de los resultados descritos. Puede observarse que aunque el antígeno FEM produjo los mayores porcentajes de reacciones positivas con los sueros de paracoccidioidomicosis, pacientes activos (73.9%) y tratados (74.0%), fue también el antígeno que mostró el mayor número de reacciones cruzadas o no específicas. En cuanto al CM, la falla consistió en que detectó pocos (18.5%) de los casos

homólogos tratados. El CL resultó más sensible para los pacientes homólogos activos (69.5%) que el FEL (60.8%); asimismo produjo menos reacciones inespecíficas con los sueros de tuberculosos y de testigos normales (18.5% en comparación con 24.5%). Sin embargo, fue ligeramente menos específico que el FEL en pacientes con otras micosis. Un examen general indicó que los productos derivados de la levadura son mejores que las preparaciones miceliares correspondientes. Sin tener en cuenta el número de sueros y considerando solo el número de pacientes, el CL dio resultados positivos en 50 de los 69 (71.0%) pacientes. El FEL produjo reacciones positivas en 43 (62.3%) de

**CUADRO 5—Intensidad de las reacciones positivas con los diversos reactivos de látex-paracoccidioidina en pacientes con paracoccidioidomicosis activa.**

Tipo de reactivo	No. de sueros que reaccionaron a una dilución de:			Total de sueros reactivos	Sueros reactivos al 1:32 y más	
	1:8-1:16	1:32-1:64	1:128 y más		No.	%
Levadura cruda	5	23	4	32	27	84.3
Levadura tratada con etanol	5	19	4	28	23	82.1
Micelio crudo	14	14	1	29	15	51.7
Micelio tratado con etanol	18	13	3	34	16	47.0
Total	42	69	12	123	81	65.8

**CUADRO 6—Intensidad de las reacciones positivas con los diversos reactivos de látex-paracoccidioidina en pacientes con paracoccidioidomicosis sometidos a tratamiento.**

Tipo de reactivo	No. de sueros que reaccionaron a una dilución de:			Total de sueros reactivos	Sueros reactivos al 1:32 y más	
	1:8-1:16	1:32-1:64	1:128 y más		No.	%
Levadura cruda	9	21	4	34	25	73.5
Levadura tratada con etanol	9	21	4	34	25	73.5
Micelio crudo	7	3	0	10	3	30.0
Micelio tratado con etanol	16	17	7	40	24	60.0
Total	41	62	15	118	77	65.2

los casos homólogos. Estas cifras por paciente concuerdan con las correspondientes a aquellas catalogadas por número de sueros.

En un esfuerzo por mejorar la especificidad de la prueba látex-paracoccidioidina, los resultados obtenidos se tabularon de acuerdo con el título de reacciones positivas.

Como indica el cuadro 5, el CL dio reacciones a títulos altos (1:32 y más) en el 84.3% y el FEL en el 82.1% de los casos activos de paracoccidioidomicosis. Los antígenos miceliares mostraron porcentajes menores de reacciones con títulos altos (CM = 51.7%, FEM = 47.0%). En los pacientes sometidos a tratamiento (cuadro 6) y con ambas preparaciones tipo levadura, se obtu-

vieron reacciones positivas a diluciones altas en el 73.5% de los casos. Las cifras correspondientes para los productos miceliares resultaron inferiores (CM = 30.0%, FEM = 60.0%).

Debido a la importancia de la histoplasmosis, los sueros de personas afectadas por este trastorno se tabularon por separado de las restantes micosis (cuadro 7). En este grupo se observaron reacciones cruzadas con la dilución sérica mayor, dentro de un margen de 33.3% (CL) a 45.4% (FEL).

En las otras micosis (cuadro 8) las reacciones cruzadas fueron de menor intensidad o no se manifestaron. Los porcentajes oscilaron desde nulos (CM) a 33.3% (FEL).

**CUADRO 7—Intensidad de las reacciones positivas con los diversos reactivos de látex-paracoccidioidina en pacientes con histoplasmosis.**

Tipo de reactivo	No. de sueros que reaccionaron a una dilución de:			Total de sueros reactivos	Sueros reactivos al 1:32 y más	
	1:8-1:16	1:32-1:64	1:128 y más		No.	%
Levadura cruda	10	4	1	15	5	33.3
Levadura tratada con etanol	6	4	1	11	5	45.4
Micelio crudo	10	6	0	16	6	37.5
Micelio tratado con etanol	12	7	1	20	8	40.0
Total	38	21	3	62	24	38.7

**CUADRO 8—Intensidad de las reacciones positivas con los diversos reactivos de látex-paracoccidioidina en pacientes con otras micosis.<sup>a</sup>**

Tipo de reactivo	No. de sueros que reaccionaron a una dilución de:			Total de sueros reactivos	Sueros reactivos al 1:32 y más	
	1:8-1:16	1:32-1:64	1:128 y más		No.	%
Levadura cruda	11	1	0	12	1	8.3
Levadura tratada con etanol	6	3	0	9	3	33.3
Micelio crudo	7	0	0	7	0	—
Micelio tratado con etanol	19	2	0	21	2	9.5
Total	43	6	0	49	6	12.2

<sup>a</sup> Aspergilosis, candidiasis generalizada, coccidioidomicosis y esporotricosis.

La preparación CL dio una reactividad cruzada de solo 8.3% con los sueros de esta categoría de pacientes.

En los casos de tuberculosis (cuadro 9) las reacciones no específicas a títulos altos oscilaron entre 17.6% (CL) y 38.0% (FEM). En cuanto a los donantes de sangre (cuadro 10) no hubo reacciones positivas altas con los antígenos tipo levadura mientras que los productos miceliarios sí causaron tales reacciones aunque en distintas proporciones (7.7 a 13.3%).

En el grupo de pacientes con paracoccidioidomicosis, se trató de comparar los resultados de los estudios de las pruebas FC e ID con los de la prueba de aglutinación con

látex (cuadro 11). Para simplificar la presentación de los datos, ambos antígenos tipo levadura se consideraron en conjunto, lo mismo que los productos miceliarios.

En lo que se refiere al primer grupo de antígenos, se observa que, en los pacientes activos, las pruebas estándar y el procedimiento del látex, fueron todos positivos en 25 (54.3%) y negativos en 2 (4.3%) de los 46 sueros procesados. La concordancia fue de 58.6%. En 11 casos (23.9%) tanto las pruebas de FC como las ID resultaron positivas pero el procedimiento de látex resultó no reactivo. En las ocho muestras restantes (17.3%) solo una de las dos pruebas están-

**CUADRO 9—Intensidad de las reacciones positivas con los diversos reactivos de látex-paracoccidioidina en casos de tuberculosis.**

Tipo de reactivo	No. de sueros que reaccionaron a una dilución de:			Total de sueros reactivos	Sueros reactivos al 1:32 y más	
	1:8-1:16	1:32-1:64	1:128 y más		No.	%
Levadura cruda	14	3	0	17	3	17.6
Levadura tratada con etanol	24	8	0	32	8	25.0
Micelio crudo	14	5	0	19	5	26.3
Micelio tratado con etanol	31	19	0	50	19	38.0
Total	83	35	0	118	35	29.6

**CUADRO 10**—Intensidad de las reacciones positivas con los diversos reactivos de látex-paracoccidioidina en donantes de sangre sanos.

Tipo de reactivo	No. de sueros que reaccionaron a una dilución de:			Total de sueros reactivos	Sueros reactivos al 1:32 y más	
	1:8-1:16	1:32-1:64	1:128 y más		No.	%
Levadura cruda	20	0	0	20	0	—
Levadura tratada con etanol	17	0	0	17	0	—
Micelio crudo	13	2	0	15	2	13.3
Micelio tratado con etanol	48	4	0	52	4	7.7
Total	98	6	0	104	6	5.7

dar más el procedimiento de látex resultaron positivos, lo que elevó la sensibilidad a 75.8%.

En los casos activos, los antígenos látex-paracoccidioidina miceliar concordaron en 31 muestras positivas y en dos negativas (67.4% y 4.3%). En siete casos (15.2%) el látex resultó no reactivo y ambas pruebas estándar positivas. En las seis muestras restantes (13.0%) las pruebas del látex y una de las dos pruebas estándar resultaron positivas. La concordancia total fue de 84.7%.

En los pacientes tratados y con los antígenos

tipo levadura, todas las pruebas concordaron en 26 casos positivos y en cinco negativos (48.1 y 9.2%, respectivamente). En 14 sueros (25.9%) el látex demostró ser no reactivo en presencia de prueba estándar positiva. En ocho casos (14.8%) el látex resultó positivo cuando solo una de las pruebas estándar era reactiva. En ese grupo se obtuvo una concordancia de 74.0%. En un caso (1.8%) el látex fue reactivo pero las pruebas restantes resultaron negativas. Las cifras correspondientes para los reactivos lá-

**CUADRO 11**—Comparación de las pruebas de fijación del complemento (FC) y de inmunodifusión (ID) con la prueba del látex en lámina (L) para el diagnóstico de la paracoccidioidomicosis.

Pruebas						Sueros de									
FC		ID		L <sup>a</sup>		Casos activos				Casos tratados				Total	
						Levadura		Micelio		Levadura		Micelio		Levadura	Micelio
+	- <sup>b</sup>	+	-	+	-	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	No.
×		×		×		25	54.3	31	67.4	26	48.1	31	57.4	51	62
	×		×		×	2	4.3	2	4.3	5	9.2	6	11.1	7	8
×		×			×	11	23.9	7	15.2	14	25.9	5	9.2	25	12
×			×	×		1	2.1	1	2.1	3	5.5	5	9.2	4	6
	×	×		×		7	15.2	5	10.9	5	9.2	7	12.9	12	12
	×		×	×		0	—	0	—	1	1.8	0	—	1	0

+ = Positiva.

- = Negativa.

<sup>a</sup> Antígenos crudos y tratados con etanol son considerados como una unidad.

<sup>b</sup> Ac o anticomplementario.



tex-miceliares fueron las siguientes: todas las pruebas positivas en 31 (57.4%); todas las pruebas negativas en seis (11.1%); látex negativo, otras pruebas positivas, en ocho (9.2%); látex reactivo y una de las pruebas estándar positiva en 12 (22.2%). La concordancia total fue de 90.4%.

En el grupo de pacientes con histoplasmosis se observó que 12 de las 32 muestras de suero presentaron reacción cruzada con antígenos de *P. brasiliensis* en la prueba FC, con títulos al 1:16 (o más bajos) en todos los casos. Ocho de estos sueros (66.0%) también mostraron reacciones positivas en la prueba látex-paracoccidioidina, mientras que las restantes resultaron negativas. Ninguno de los especímenes presentó reacción cruzada en la prueba de ID.

De los 35 sueros de enfermos con otras micosis, ninguno presentó reacciones cruzadas en las pruebas estándar pero algunos resultaron positivos (cuadro 4) en la prueba látex-paracoccidioidina, en grados diversos. Una situación análoga se observó en casos de tuberculosis y en donantes de sangre.

## Discusión

Debido a la similitud clínica y radiológica de la paracoccidioidomicosis y de la tuberculosis, así como por el hecho de que esta última enfermedad sigue afectando considerablemente a personas residentes en las zonas endémicas de la paracoccidioidomicosis, la micosis pasa con frecuencia inadvertida. Una prueba serológica sencilla que pudiera practicarse en los hospitales locales contribuiría en gran medida, al establecimiento de un diagnóstico apropiado. Los procedimientos serológicos estándar más complejos y más difíciles de realizar en gran parte de las zonas endémicas, se han mostrado instrumentos excelentes para ese fin (15); ello sugiere que una prueba de laboratorio más simple resultaría satisfactoria. El presente estudio des-

cribe los datos obtenidos con una de las pruebas serológicas más sencillas.

Se puso de manifiesto que la prueba de látex-paracoccidioidina, practicada con antígenos derivados del micelio era bastante inespecífica, produciendo, incluso, reacciones a títulos altos (1:32 y más) en sueros provenientes de los grupos testigos (cuadros 4, 9, 10). Si bien la sensibilidad y la concordancia con las pruebas estándar fueron aparentemente elevadas, la falta de especificidad impide su empleo para fines de diagnóstico. Por consiguiente, la discusión restante se concentrará en la prueba del látex sensibilizado con paracoccidioidina tipo levadura.

A juzgar por el porcentaje de reacciones positivas obtenido en los pacientes con paracoccidioidomicosis, las partículas de látex sensibilizadas con CL detectaron una mayor proporción (69.5%) de casos activos que el FEL (60.8%); ambas preparaciones produjeron porcentajes iguales de reacciones positivas (63.0%) en pacientes sometidos a tratamiento. Estas cifras no son tan altas como las proporcionadas por las pruebas FC o ID ya que estas cubren el 85.0% de los casos de paracoccidioidomicosis (1). No obstante, la gran simplicidad del procedimiento del látex y el hecho de que al momento del diagnóstico se detectó aproximadamente el 70.0% de los casos, hacen aceptable la prueba. En efecto, es en este grupo de pacientes en el que es más necesario un indicio de laboratorio, a fin de concentrar la atención en la micosis y proceder a otros estudios micológicos (pruebas serológicas repetidas, exámenes directos y de cultivo de especímenes patológicos, etc.). La prueba podría también considerarse como una prueba tamiz, útil si se practica a nivel del laboratorio local, ya que separaría las muestras que requieren un estudio serológico más completo. Los sueros que mostraran una aglutinación fuertemente positiva, de preferencia si su título es alto, deberían enviarse al laboratorio de referencia para confirmación. Aunque la cifra

de 69.8% se redujera en aproximadamente un 10% ( $27/48 = 58.7\%$ ) a fin de aceptar como positivos únicamente los sueros con títulos de 1:32 o superiores, la prueba seguiría siendo útil en cuanto a poder de cobertura y tamizaje.

Un análisis de la especificidad de las partículas sensibilizadas con antígeno levadura revela que no cabe esperar problemas serios con los sueros de individuos normales, si las muestras se diluyen al 1:32. A pesar de que de 17.0 y 20.0% de los sueros de este grupo reaccionaron en la prueba a la dilución de 1:8, ninguna de las muestras demostró ser positiva a una dilución más alta. En el caso de los enfermos de tuberculosis se hallaron reacciones no específicas, a títulos altos, del orden de 20.0%. No se encontró explicación para una tan considerable proporción de sueros fuertemente reactivos en la prueba de látex ya que no fue posible confirmar la presencia de anticuerpos con las pruebas FC e ID. A este respecto, Di Salvo (16) observó 7.0% de reacciones positivas falsas con la prueba histoplasmina-látex en casos de tuberculosis.

En cuanto a los sueros de pacientes con histoplasmosis, ninguna de las preparaciones látex-paracoccidioidina levadura pudo alcanzar la especificidad. Aproximadamente el 40.0% de los pacientes afectados por este trastorno mostró una prueba látex-paracoccidioidina positiva, y de ellos, un porcentaje similar presentó títulos de anticuerpos al 1:32 ó superiores.

Las correspondientes reacciones cruzadas en las pruebas FC e ID son de orden más bajo, 26.2 y 14.8%, respectivamente (1, 17). Los presentes resultados indican, una vez más, la gran similitud antigénica entre *P. brasiliensis* y *H. capsulatum*.

El número de sueros de pacientes con otras micosis era relativamente reducido, solo 35 muestras, y su distribución irregular. Fue en ese grupo, considerado en conjunto, en el que las partículas sensibilizadas con CL re-

velaron mejor especificidad ya que el número de especímenes con reacción cruzada a título alto resultó considerablemente más bajo (8.3%) que el exhibido por el FEL (33.3%). La comparación del valor del CL con el de FEL indica que el primero es mejor, porque: a) ofrece una mayor cobertura de los pacientes activos, b) muestra menos reacciones inespecíficas en los grupos integrados por enfermos con tuberculosis y donantes de sangre (valor medio: CL = 18.5%, FEL = 24.5%) y c) produce menos reacciones cruzadas a título alto en casos de histoplasmosis (33.3 en comparación con 45.4%), así como en pacientes con otras micosis (8.3 en comparación con 33.3%).

El grado de rendimiento del CL fue el mismo que el del FEL en pacientes con paracoccidioidomicosis tratada, dando también reacciones positivas altas tanto en los casos activos como en los tratados y no presentando ninguna reacción positiva mayor del 1:16 en los donantes de sangre. Puesto que CL es mucho más simple de preparar (9), debe preferirse. En consecuencia, está justificado su uso en otros ensayos a nivel del laboratorio del hospital general.

En el curso de este estudio se observó que los sueros viejos que, con el tiempo, se habían enturbiado, o los nuevos conservados impropriadamente, mostraban aglutinación espontánea con las partículas de látex no sensibilizadas. Puesto que en tal caso los especímenes no sirven para la prueba, se recomienda su debida manipulación y conservación (6).

En lo que se refiere a la concordancia de los resultados obtenidos con las pruebas de látex-paracoccidioidina levadura con las de los procedimientos FC e ID, se observó una correlación adecuada, 75.8% en los pacientes activos y 74.0% en los tratados. Además, en los enfermos de histoplasmosis, el 66.6% de los especímenes que mostraron reacción cruzada con el látex fueron también positivos en las pruebas restantes. Por el contrario no se encontró esa correlación en lo que res-

pecta a los pacientes con otras micosis ni a los grupos testigo, lo que indica que cierta proporción de las reacciones de látex positivas son positivas falsas.

### Resumen

Se emplearon partículas de látex sensibilizadas con 4 tipos de paracoccidioidina, en una prueba de aglutinación en lámina, estudiándose 100 sueros de pacientes con paracoccidioidomicosis comprobada, activos y tratados, así como 67 sueros de pacientes con otras micosis, 100 casos de tuberculosis y 100 de donantes de sangre. Las partículas sensibilizadas con paracoccidioidina miceliar (cruda y precipitada con etanol) demostraron ser inespecíficas ya que produjeron reacciones positivas a título alto con los sueros de los grupos testigo. Las partículas sensibilizadas con antígeno levadura resultaron más específicas, especialmente si el título mínimo reconocido era de 1:32. Para sensibilizar las partículas el filtrado crudo de levadura resultó mejor que el filtrado de levadura tratado con etanol, ya que detectó un mayor número de pacientes activos (69.5% en comparación con 60.8%) y causó menos reacciones cruzadas de alto título o reacciones inespecíficas con los sueros de los grupos restantes, siendo, además, más fácil de preparar. Sin embargo, aun con esta preparación, no fue posible separar totalmente los sueros de

histoplasmosis de los de paracoccidioidomicosis, ya que el 40.0% de los especímenes de la primera categoría reaccionaron fuertemente en la prueba de látex-paracoccidioidina.

Con las condiciones especificadas, el procedimiento del látex sensibilizado con paracoccidioidina levadura es una prueba útil para el hospital regional, no solo por su sencillez sino también porque permite separar los especímenes que deben ser objeto de un estudio más completo; de esta manera se reduciría al mínimo el envío de los sueros al laboratorio de referencia. Una reacción de látex positiva al 1:32 (o superior), indica la necesidad de determinar la etiología micótica del proceso que sufre el paciente. □

### Agradecimientos

Las autoras expresan su agradecimiento a las personas siguientes, por su interés y cooperación en este estudio: Dr. Mauricio Martins da Silva, Departamento de Promoción y Coordinación de Investigaciones, Organización Panamericana de la Salud, Washington, D. C.; Dr. Hillel Levine, Departamento de Microbiología Médica, Escuela de Salud Pública, Laboratorio Naval de Investigaciones Biomédicas, Centro Naval de Suministros, Oakland, California; Dr. Libero Ajello, División de Micología, y Dr. Irving C. Kagan, División de Parasitología, Oficina de Laboratorios, Centro para el Control de Enfermedades, Atlanta, Georgia.

### REFERENCIAS

- (1) Restrepo, A. y L. H. Moncada. Serologic procedures in the diagnosis of paracoccidioidomycosis. Proc. 1st. Internal Symp. Mycoses, Publicación Científica de la OPS 205, Washington, D.C., págs. 101-110, 1970.
- (2) Restrepo, A., M. Robledo, R. Giraldo, F. Gutiérrez, F. Londoño, H. Hernández, F. Sierra, R. López y G. Calle. The gamut of paracoccidioidomycosis. *Am J Med* 61: 33-39, 1976.
- (3) Bloomfield, N., M. A. Gordon y D. F. Elmerdorf. Detection of *Cryptococcus neoformans* antigen in body fluids by latex particle agglutination. *Proc Soc Exp Biol Med* 11:64-67, 1945.
- (4) Stickle, D., L. Kaufman, S. O. Blumer y D. McLaughlin. Comparison of a newly de-

- veloped latex agglutination test and immunodiffusion test in the diagnosis of systemic candidiasis. *Appl Microbiol* 23:490-499, 1972.
- (5) Hill, G. B. y D. C. Campbell. Commercially available histoplasmin sensitized latex particles in an agglutination test for histoplasmosis. *Mycopathologia* 18:169-176, 1962.
  - (6) Gerber, J. D., R. E. Riley y R. D. Jones. Evaluation of a micro-titer latex agglutination test for histoplasmosis. *Appl Microbiol* 24:191-197, 1972.
  - (7) Huppert, M., E. T. Peterson, S. H. Sun, P. Chittjian y W. Derrerre. Evaluation of a latex particle agglutination test for coccidioidomycosis. *Am J Clin Path* 49:96-102, 1968.
  - (8) Blumer, S. O., L. Kaufman, W. Kaplan, D. McLaughlin y D. E. Kraft. Comparative evaluation of 5 serological methods for the diagnosis of sporotrichosis. *Appl Microbiol* 26:4-8, 1973.
  - (9) Restrepo, A. y J. D. Schneidau. Nature of the skin reactive principle in culture filtrates prepared from *P. brasiliensis*. *J Bacteriol* 91:1741-1748, 1967.
  - (10) Singer, J. M. y C. M. Plotz. The latex fixation test. *Am J Med* 21:888-892, 1956.
  - (11) Szyfres, B., e I. A. Kagan. A modified slide latex screening test for hydatid disease. *J Parasitol* 49:69-72, 1963.
  - (12) Carlisle, H. N. y S. Saslaw. A histoplasmosis latex agglutination test. I. Results with animal sera. *J Lab Clin Med* 51:793-801, 1958.
  - (13) Centro para el Control de Enfermedades (EUA). Standardized complement fixation methods and adaptation to micro-test. *Public Health Monog* No. 74, Publication No. 1228, Servicio de Salud Pública de Estados Unidos, Imprenta del Gobierno, Washington, D.C., 1965.
  - (14) Harrel, W. K., H. Ashworth, L. E. Britt, J. R. George, S. B. Gray, J. H. Green, H. Gross y J. E. Johnson. Procedure Manual for production of bacterial, fungal parasitic reagents. 3a. edición. Centro para el Control de Enfermedades, Atlanta, Georgia, 1973.
  - (15) Fava Netto, C. Imunologia da Paracoccidioidomycose. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 18:42-53, 1976.
  - (16) Di Salvo, A. y O. S. Corbitt. Apparent false positive histoplasmin latex agglutination test in patients with tuberculosis. *J Clin Microbiol* 3:306-308, 1976.
  - (17) Restrepo, A. y L. H. Moncada. Characterization of the precipitin bands detected in the ID test for paracoccidioidomycosis. *Appl Microbiol* 28:138-144, 1974.

### A slide latex screening test for paracoccidioidomycosis (Summary)

Four types of paracoccidioidin-sensitized latex particle were employed in a slide agglutination test with 100 sera from proven paracoccidioidomycosis patients, both active and treated, as well as in sera from patients with other mycoses (67), from tuberculosis patients (100) and from blood donors (100). Particles sensitized with the mycelial paracoccidioidins (crude and ethanol precipitated) proved quite non-specific as they produced high-titered positive reactions with the sera from the control groups. The yeast sensitized particles were more specific, specially if the 1:32 dilution was considered as the minimal positive reaction indicative of antibodies to *P. brasiliensis* in the patient's serum. The crude yeast filtrate used to sensitize the particles was found to be better than the ethanol-treated yeast filtrate not only because it is a easier to obtain but also because it detected a higher number of

active patients (69.5% vs. 60.8%) and caused less high-titered cross or non-specific reactions with the sera from the remaining groups. However, even with this preparation, it was not possible to completely separate histoplasmosis—from paracoccidioidomycosis—sera as 40.0% of the specimens in the first category reacted strongly in the latex paracoccidioidin test.

Under the conditions specified in the test, the latex yeast paracoccidioidin procedure is an useful test for the regional hospital, not only because it is easy to perform but also because it sorts out those specimens which should be subjected to more thorough search; in doing so it minimizes the need of shipping every specimen to a reference laboratory. A positive latex reaction of the 1:32 (or higher) indicates that efforts should be made to determine the fungal etiology of the patient's process.

### Uma prova com látex em lâmina para o diagnóstico da paracoccidioidomicose (Resumo)

Empregaram-se partículas de látex sensibilizadas com 4 tipos de paracoccidioidina, numa prova de aglutinação em lâmina, estudando-se 100 soros de doentes com paracoccidioidomicose comprovada, ativos e tratados, bem como 67 soros de doentes com outras micoses, 100 casos de tuberculose e 100 de doadores de sangue. As partículas sensibilizadas com paracoccidioidina miceliar (crua e precipitada com etanol) demonstraram ser inespecíficas visto que produziram reações positivas a título alto com os soros dos grupos controle. As partículas sensibilizadas com fermento resultaram mais específicas, especialmente se a diluição de 1:32 se considerou como a reação positiva mínima indicativa de anticorpos a *P. brasiliensis* no soro do doente. O filtrado cru de fermento deu melhor resultado para sensibilizar as partículas que o filtrado de fermento tratado com etanol, uma vez que detectou um número maior de doentes ativos (69,5% em comparação com 60,8%) e causou menos

reações cruzadas de alto título ou reações inespecíficas com os soros dos grupos restantes. Contudo, ainda com esta preparação, não foi possível separar totalmente os soros de histoplasmoses dos de paracoccidioidomicose visto que, 40,0% dos espécimes da primeira categoria reagiram vigorosamente na prova de látex — paracoccidioidina.

Sob as condições especificadas no teste, o método do látex sensibilizado com paracoccidioidina fermento serve como prova útil num hospital regional não só tanto pela sua simplicidade como também por permitir separar os espécimes que devem ser sujeitos a uma pesquisa mais completa; desta forma é possível reduzir ao mínimo a remessa de soros a um laboratório de referência. Uma reação de látex positiva de 1:32 (ou mesmo mais alta), indica a necessidade de determinar a etiologia fungosa do processo pelo qual está atravessando o doente.

### Test au latex sous plaque pour le diagnostic de la paracoccidioidomycose (Résumé)

Expérience d'agglutination sous plaque utilisant des particules de latex sensibilisées à l'aide de quatre types de paracoccidioidine et portant sur 100 sérums de patients atteints de paracoccidioidomycose (active ou traitée), sur 67 sérums de patients souffrant d'un autre type de mycose, sur 100 tuberculeux et 100 donneurs de sang. Les particules sensibilisées à la paracoccidioidine micellaire (brute et précipitées à l'éthanol) ont démontré ne pas être spécifiques puisqu'elles ont donné des réactions positives à haut titrage pour les sérums des groupes témoins. Les particules sensibilisées avec un antigène levure se sont avérées plus spécifiques, et ce d'autant plus si l'on fixe le titre minimum reconnu à 1:32. En ce qui concerne la sensibilisation des particules, le filtrat brut de levure a donné de meilleurs résultats que le filtrat de levure traité à l'éthanol. En effet, outre sa plus grande facilité de préparation, il a permis de détecter un plus grand nombre de patients actifs (69,5 contre 60,8%)

et a provoqué moins de réactions croisées à haut titrage ou de réactions non-spécifiques avec les sérums des groupes restants. Néanmoins il n'a pas été possible, même en utilisant cette préparation, de séparer totalement les sérums d'histoplasmoses de ceux de paracoccidioidomycose car 40,0% des spécimens de la première catégorie ont réagi fortement au test de latex-paracoccidioidine.

S'il est pratiqué dans les conditions précitées, le procédé du latex sensibilisé à la paracoccidioidine levure peut constituer un test très utile pour les hôpitaux régionaux du fait de sa simplicité d'application mais aussi parce qu'il permet d'isoler les spécimens qui doivent faire l'objet d'une analyse plus approfondie. Son emploi permettrait de réduire au minimum l'envoi de sérums à un laboratoire de référence. Si l'on obtient une réaction latex positive, égale ou supérieure à 1:32, il convient de déterminer l'étiologie mycotique de l'affection du patient.