



## Cartas a los Directores

### Utilidad de la espectrometría de masas en el diagnóstico microbiológico de la candiduria



#### Utility of mass spectrometry in the microbiological diagnosis of candiduria

Señores Directores:

La candiduria es cada vez más frecuente, especialmente en pacientes hospitalizados, inmunodeprimidos y cateterizados. La identificación de levaduras por métodos convencionales es lenta y compleja. La espectrometría de masas *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight* (MALDI-TOF<sup>®</sup>) constituye un nuevo método de identificación rápido y preciso<sup>1,4-6,8</sup>. Nuestro objetivo ha sido evaluar su rentabilidad en la identificación de levaduras responsables de candiduria, en comparación con la asimilación de compuestos de carbono, con la identificación molecular como el *gold standard*.

Hemos ensayado 276 cepas de levaduras aisladas de urocultivos de rutina pertenecientes a 4 géneros (*Candida*, *Saccharomyces*, *Saprochaete* y *Trichosporon*) y 18 especies. Empleamos colonias crecidas en agar sangre o agar de Sabouraud con cloranfenicol y gentamicina, tras 48 h de incubación. Para la identificación por el análisis del perfil de asimilación de compuestos de carbono utilizamos el sistema comercial ID 32C<sup>®</sup> (bioMérieux, Francia), así como los códigos numéricos del fabricante. Para el método MALDI-TOF<sup>®</sup> realizamos la extracción de proteínas mediante dos protocolos: con ácido fórmico y con etanol/ácido fórmico<sup>1,2,4,6</sup>. Los espectros proteicos se analizaron en el espectrómetro MALDI-TOF Microflex<sup>®</sup> (Bruker Daltonics GmbH, Alemania) y se compararon con los de la base de datos Biotyper versión 3.0 (Bruker Daltonics GmbH, Alemania). Los valores de confianza utilizados fueron los recomendados por el fabricante: <1,7 identificación no fiable, 1,7-2 identificación de género, >2 identificación de género y especie. Además se realizó extracción del ADN, amplificación por PCR y secuenciación de los espacios intergénicos *internal transcribed spacer 1* (ITS1), ITS2 y el gen 5,8S del ARN ribosómico mediante los *primers* ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGC-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')<sup>3,7</sup>. Las secuencias obtenidas se analizaron con el programa BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>), fijando un porcentaje de similitud  $\geq 98\%$  entre la secuencia desconocida y la de la base de datos. Como controles positivos se emplearon las cepas *Candida albicans* ATCC 68548, *C. glabrata* ATCC 2001, *C. parapsilosis* ATCC 90018 y *C. krusei* ATCC 6258.

Los resultados del análisis se muestran en la [tabla 1](#). La concordancia entre los métodos comprendió al 98,2% de las cepas, y alcanzó casi el 100% en las especies más frecuentes: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis*. Con el ID 32C<sup>®</sup> no fue posible identificar aquellas especies que precisan biología molecular, como *Candida dubliniensis*

**Tabla 1**

Identificación de las cepas mediante ID 32C<sup>®</sup> y MALDI-TOF<sup>®</sup>

Género y especie	Número de aislamientos	ID 32C <sup>®</sup> (%)	MALDI-TOF <sup>®</sup> (%)
<i>Candida</i>			
<i>C. albicans</i>	122	122 (100)	122 (100)
<i>C. dubliniensis</i>	1	0	1 (100)
<i>C. glabrata</i>	52	52 (100)	52 (100)
<i>C. nivariensis</i>	1	0	1 (100)
<i>C. tropicalis</i>	47	47 (100)	47 (100)
<i>C. parapsilosis</i>	19	19 (100)	19 (100)
<i>C. orthopsilosis</i>	2	0	2 (100)
<i>C. krusei</i>	9	9 (100)	9 (100)
<i>C. lusitaniae</i>	8	8 (100)	8 (100)
<i>C. kefyr</i>	5	5 (100)	5 (100)
<i>C. ciferrii</i>	1	1 (100)	1 (100)
<i>C. famata</i>	1	1 (100)	1 (100)
<i>C. guilliermondii</i>	1	1 (100)	1 (100)
<i>C. norvegensis</i>	1	1 (100)	1 (100)
<i>Saccharomyces</i>			
<i>S. cerevisiae</i>	1	1 (100)	1 (100)
<i>Saprochaete</i>			
<i>S. capitata</i>	2	2 (100)	2 (100)
<i>Trichosporon</i>			
<i>T. asahii</i>	2	2 (100)	1 (50)
<i>T. cutaneum</i>	1	1 (100)	1 (100)
<b>Total</b>	<b>276</b>	<b>272 (98,5)</b>	<b>275 (99,6)</b>

(un aislamiento incorrectamente identificado como *C. albicans*), *Candida nivariensis* (un aislamiento incorrectamente identificado como *C. glabrata*) y las especies crípticas de *C. parapsilosis* (2 cepas de *Candida orthopsilosis*). La espectrometría de masas sí permitió identificar estas levaduras, pero no un aislamiento de *Trichosporon asahii*, cuya identificación arrojó un valor de confianza inferior a 1,7 en los dos protocolos, a pesar de haberse obtenido espectros de masas de buena calidad<sup>9,10</sup>. El resto de las cepas se identificaron con un valor de confianza superior a 2.

La tecnología MALDI-TOF<sup>®</sup> permite la identificación de la mayoría de levaduras responsables de candiduria y es capaz de identificar especies raras, aunque presenta problemas en la identificación de levaduras formadoras de artroconidias. A diferencia del ID 32C<sup>®</sup>, que requiere una incubación de 24-72 h, MALDI-TOF<sup>®</sup> ofrece resultados en menos de 2 h y es más económico.

### Bibliografía

- Buchan BW, Ledeboer NA. Advances in identification of clinical yeast isolates by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2013;51:1359–66.
- Goyer M, Lucchi G, Ducrooy P, Vagner O, Bonnin A, Dalle F. Optimization of the preanalytical steps of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry identification provides a flexible and efficient tool for identification of clinical yeast isolates in medical laboratories. *J Clin Microbiol.* 2012;50:3066–8.

3. Leaw SN, Chang HC, Sun HF, Barton R, Bouchara JP, Chang TC. Identification of medically important yeast species by sequence analysis of the internal transcribed spacer regions. *J Clin Microbiol.* 2006;44:693-9.
4. Marklein G, Josten M, Klanke U, Müller E, Horré R, Maier T, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *J Clin Microbiol.* 2009;47:2912-7.
5. Martínez-Lamas L, Pérez del Molino ML, Pardo F, Varela E, Regueiro BJ. Espectrometría de masas matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight vs. metodología convencional en la identificación de *Candida no-albicans*. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29:568-72.
6. Rosenvinge FS, Dzajic E, Knudsen E, Malig S, Andersen LB, Løvig A, et al. Performance of matrix-assisted laser desorption-time of flight mass spectrometry for identification of clinical yeast isolates. *Mycoses.* 2013;56:229-35.
7. Santos C, Lima N, Sampaio P, Pais C. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight intact cell mass spectrometry to detect emerging pathogenic *Candida* species. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;71:304-8.
8. Sendid B, Ducoroy P, François N, Lucchi G, Spinali S, Vagner O, et al. Evaluation of MALDI-TOF mass spectrometry for the identification of medically-important yeasts in the clinical laboratories of Dijon and Lille hospitals. *Med Mycol.* 2013;51:25-32.
9. Stevenson LG, Drake SK, Shea YR, Zelazny AM, Murray PR. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of clinically important yeast species. *J Clin Microbiol.* 2010;48:3482-6.
10. Westblade LF, Jennemann R, Branda JA, Bythrow M, Ferraro MJ, Garner OB, et al. Multicenter study evaluating the Vitek MS system for identification of medically important yeasts. *J Clin Microbiol.* 2013;51:2267-72.

Lidia García-Agudo<sup>a,\*</sup>, Fátima Galán<sup>b</sup>,  
Pedro García-Martos<sup>b</sup>, Rafael Carranza<sup>c</sup>  
y Manuel Rodríguez-Iglesias<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Helse Møre og Romsdal, Molde sykehus, Laboratorium for medisinsk mikrobiologi, Noruega

<sup>b</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Puerta del Mar, Cádiz, España

<sup>c</sup> Servicio de Análisis Clínicos, Hospital General La Mancha-Centro, Alcázar de San Juan, Ciudad Real, España

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [lidiagarciaagudo@gmail.com](mailto:lidiagarciaagudo@gmail.com) (L. García-Agudo).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2015.02.006>

## Tiña del cuerpo de rápida evolución



### Rapidly evolving tinea corporis

Sres. Directores:

Presentamos el caso de un varón de 42 años, sin antecedentes de interés, salvo la existencia de hipertensión arterial en tratamiento con bisoprolol y enalapril, y dislipemia en tratamiento dietético. El paciente consultaba por presentar lesiones eritematosas muy pruriginosas que comenzaron como pequeñas placas en la región superior de la espalda la semana previa, y que se habían ido extendiendo rápidamente hasta alcanzar la cara posterior de los muslos. Había acudido en varias ocasiones a urgencias de su centro de salud, donde se le había administrado repetidamente metilprednisolona 100 mg y dexclorfeniramina 5 mg por vía intramuscular, sin mejoría del cuadro. Tampoco presentaba fiebre, pérdida de peso, tos, síndrome miccional ni ningún otro tipo de clínica sistémica. El paciente, que vivía en la ciudad, refería no tener contacto con animales y no había realizado cambios en su medicación habitual. Ninguno de sus contactos presentaba enfermedad cutánea alguna, ni aguda ni crónica.

A la exploración el paciente presentaba múltiples placas eritematodescemativas de morfología numular y con borde elevado marcado, que confluyen y dejan islotes de piel sana.

confluyentes en algunas zonas, que ocupaban gran parte de la espalda dejando islotes de piel sana (fig. 1). Se apreciaban algunas pústulas en la periferia de algunas lesiones. La afectación alcanzaba la cara posterior de los muslos. El resto de la piel, el pelo y las uñas no presentaba alteraciones.

Se realizó un examen directo de las escamas de piel tomadas como muestra con tinción de hidróxido de potasio, donde se apreciaron abundantes hifas hialinas ramificadas compatibles con dermatofitos (fig. 2).

Se realizaron también un cultivo micológico, en el cual creció *Trichophyton mentagrophytes*, y una biopsia cutánea, donde se apreciaban hifas y levaduras (fig. 3). Con el diagnóstico de *tinea corporis* se inició un tratamiento con terbinafina oral 250 mg/día durante 3 semanas y ciclopiroxolamina crema al 1%, con resolución del cuadro.

La evolución tan rápida del cuadro nos obligó a descartar un estado de inmunodepresión en el paciente, por lo que se realizaron serologías para virus de la inmunodeficiencia humana 1 y 2, virus hepatotropos y sífilis, así como una analítica sanguínea con marcadores de autoinmunidad (ANA, anticuerpos anticentrómero, anti-scl70 y anti-RNA) que no mostraron alteraciones significativas. También se realizó un TAC toraco-abdomino-pélvico, que resultó normal, para descartar neoplasias internas. Por este motivo nuestra principal sospecha es que la administración repetida de corticoides



Figura 1. Placas eritemato-descemativas de morfología numular y con borde elevado marcado, que confluyen y dejan islotes de piel sana.