

Metanálisis de pruebas inmunológicas para el diagnóstico de la infección por *Paracoccidioides*, 1972-2017

Luis Felipe Higueta-Gutiérrez¹ Catherine Quintero-Quinchía², Iván Camilo Madera-Miranda², Jaiberth Antonio Cardona-Arias^{3,*}

Resumen

Objetivo: Evaluar la validez diagnóstica de las pruebas inmunológicas en la infección por *Paracoccidioides*, a partir de un metaanálisis de la literatura publicada entre 1972-2017.

Métodos: Se realizó un metanálisis según las fases de identificación, tamización, elección e inclusión descritas en la guía PRISMA. Se evaluó la calidad metodológica con la guía QUADAS y se garantizó la reproducibilidad en la selección de estudios y extracción de la información. Se estimó la sensibilidad, especificidad, razones de verosimilitud, OR diagnóstica y área bajo la curva ROC usando Meta-DiSc.

Resultados: Se identificaron 21 estudios que evaluaron 32 pruebas diagnósticas con una población de 1.404 individuos sanos, 2.415 con otras infecciones y 2.337 con *Paracoccidioides*. La mayoría de pacientes son de Brasil y Colombia. Las pruebas analizadas incluyen inmunodifusión, western blot, ELISA, aglutinación en látex. Las pruebas presentaron una sensibilidad y especificidad superior al 90%, razón de verosimilitud positiva y negativa de 24,7 y 0,08 respectivamente. La OR diagnóstica fue 495,9 y el área bajo la curva de 0,99. En la meta-regresión por tipo de antígeno se encontró que las mezclas de antígenos y el gp43 presentaron resultados satisfactorios en todos los parámetros; por su parte, los que utilizaron el antígeno p27 no presentaron resultados aceptables en ninguno de los parámetros.

Conclusión: La elevada validez diagnóstica hallada en las pruebas serológicas que utilizan mezclas de antígenos o gp43 purificada evidencia la pertinencia de su uso en clínica y en programas de tamización.

Palabras clave: Paracoccidioides, Diagnóstico, metanálisis

Meta-analysis of immunological tests for the diagnosis of *Paracoccidioides* infection, 1972-2017

Abstract

Objective: To evaluate the diagnostic validity of the immunological tests in *Paracoccidioides* infection, from a meta-analysis of the literature published between 1970-2017.

Methods: Meta-analysis according to the identification, screening, eligibility and inclusion phases of PRISMA. The methodological quality was evaluated with the QUADAS guide and the reproducibility in the selection of studies and extraction of the information was guaranteed. Sensitivity, specificity, likelihood ratios, diagnostic OR and area under the ROC curve were estimated using Meta-DiSc.

Results: We identified 21 studies that evaluated 32 diagnostic tests with a population of 1404 healthy individuals, 2415 with other infections and 2337 with *Paracoccidioides*. The majority of patients are from Brazil and Colombia. The tests analyzed include immunodiffusion, western blot, ELISA, latex agglutination. The tests presented a sensitivity and specificity higher than 90%, positive and negative likelihood ratio of 24,7 and 0,08 respectively. The diagnostic OR was 495,9 and the area under the curve was 0,99. In the meta-regression by type of antigen it was found that mixtures of antigens and gp43 showed satisfactory results in all parameters; those who used the p27 antigen did not present acceptable results in any of the parameters.

Conclusion: The diagnostic validity of the serological tests using mixtures of antigens or purified gp43 is clinically similar, for the other antigens the validity was scarce.

Keywords: Paracoccidioides, Diagnosis, Meta-Analysis

Introducción

La paracoccidioidomicosis (PCM) es una enfermedad tropical desatendida que constituye la micosis sistemática más importante de América Latina. La mayor prevalencia se encuentra en Brasil con 30 casos por millón de habitantes seguido

de Venezuela, Ecuador, Argentina y Colombia^{1,2}. La infección es causada por el hongo dimórfico térmico del complejo *Paracoccidioides*^{3,4}, afecta principalmente a hombres agricultores durante los años más productivos de su vida, de manera que, además del impacto clínico por la afectación de pulmones, mucosas, piel, ganglios linfáticos, bazo, glándulas

1 Profesor Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina Universidad Cooperativa de Colombia

2 Estudiantes Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia

3 Profesor Escuela de Microbiología Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina Universidad Cooperativa de Colombia.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: luis.higueta@campusucc.edu.co

Recibido: 12/04/2018; Aceptado: 18/09/2018

Cómo citar este artículo: L.F. Higueta-Gutiérrez, et al. Metanálisis de pruebas inmunológicas para el diagnóstico de la infección por *Paracoccidioides*, 1972-2017. Infectio 2019; 23(2): 167-174

suprarrenales e incluso sistema nervioso central; la enfermedad acarrea altos costos sociales, económicos y constituye un grave problema de salud pública en la región^{5,6}.

Lo anterior pone de manifiesto la necesidad de un diagnóstico correcto para estimar la prevalencia en poblaciones de riesgo y brindar tratamiento oportuno⁷. En este orden de ideas, las pruebas inmunológicas se han empleado como una buena alternativa porque en adición al diagnóstico diagnóstico, permiten dar cuenta de la monitorización de la evolución y la respuesta al tratamiento⁸, además pueden ser más simples y menos costosas que las moleculares, lo que facilitaría su implementación. Entre las principales pruebas inmunológicas se encuentran la inmunodifusión en gel de agar (ID), inmunofluorescencia indirecta, pruebas de ELISA, inmunotransferencia y Western Blot^{2,9-14}. En estas pruebas existe una importante variabilidad con respecto a la obtención del antígeno y las preparaciones antigénicas que van desde mezcla de antígenos crudos, parcialmente purificados y purificados como la gp43¹⁵, lo que podría tener implicaciones en el desempeño diagnóstico, particularmente en la especificidad por la reactividad cruzada con otros microorganismos¹⁶.

Por otro lado, estudios previos han descrito alta heterogeneidad en parámetros de validez diagnóstica, así para la ID los datos de sensibilidad oscilan entre el 65% y 100% utilizando filtrados de cultivos y Ag 7, en la contraelectroforesis la sensibilidad varía entre 77% a 97% con una especificidad de 95%^{15,16}, mientras para la ELISA se ha reportado una sensibilidad entre 95% y 100% y una especificidad de 88% y 93,4% utilizando filtrados de antígenos y gp43 respectivamente¹⁷. Lo expuesto evidencia alta diversidad de pruebas de inmunodiagnóstico, heterogeneidad en los resultados de validez diagnóstica, reportes parciales de la utilidad diagnóstica en la medida que los estudios previos no incluye parámetros de gran relevancia para orientar la toma de decisiones como las razones de verosimilitud o área bajo la curva, a lo que se suman posibles problemas de potencia estadística en algunos estudios con bajo número de pacientes¹⁸ o sujetos sin la infección.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio es evaluar la validez diagnóstica de las pruebas inmunológicas en la infección por *Paracoccidioides*, a partir de un metaanálisis de la literatura publicada entre 1972-2017.

Material y método

Tipo de estudio

Revisión sistemática de la literatura científica con metaanálisis.

Protocolo de búsqueda y selección de los estudios según las fases de la guía PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses)¹⁹

Identificación: Se realizó una búsqueda de artículos por especificidad con términos DeCS (Descriptor en Ciencias de la Salud) y por sensibilidad con términos no incluidos en te-

sauros y en buscadores abiertos como google, en las bases de datos PubMed, Sciencedirect, Scielo, Scopus, Ovid, Ebsco y Google scholar. En la búsqueda se utilizaron los términos paracoccidioides AND sensitivity, paracoccidioides AND specificity, paracoccidioides AND diagnosis, paracoccidioides AND validity, paracoccidioides AND predictive value. Adicional a lo anterior se escribieron a algunos autores para identificar artículos no disponibles en las bases de datos consultadas. Se realizó la búsqueda en Lilacs, sin hallar resultados adicionales a los identificados en Scielo.

Algunas estrategias de búsqueda en PubMed fueron ((Paracoccidioides [Title/Abstract]) AND sensitivity [Title/Abstract]); en OVID (Paracoccidioides and specificity).ab.; en ScienceDirect TITLE-ABSTR-KEY (Paracoccidioides AND diagnosis) y en Scielo (ab:(Paracoccidioides)) AND (ab:(validity)).

Tamización: Se incluyeron estudios con los términos de búsqueda en título, resumen y/o palabras clave, sin restringir temporalidad, publicados en inglés, portugués y español, que fuesen artículos originales, realizados en humanos y que su objetivo fuese evaluar pruebas diagnósticas para la infección por *Paracoccidioides*. De manera retrospectiva no se aplicaron restricciones, la publicación más antigua data de la década de los 1970 y de manera prospectiva la última aplicación del protocolo de búsqueda y selección de estudios se realizó en diciembre del 2017.

Elección: Se excluyeron los estudios que evaluaran pruebas moleculares, detección de antígenos o pruebas imagenológicas, que tuviesen la información incompleta, y que no fue posible obtener en texto completo pese al envío de mensajes a los autores.

Inclusión: Los artículos que cumplieron con los criterios anteriores se incluyeron para la síntesis cualitativa de las variables: título, autores, año de publicación, revista, lugar de procedencia de los pacientes incluidos, número de pacientes, sexo, prueba evaluada, muestra biológica, tipo de antígeno o antígenos utilizados, verdaderos positivos (personas infectadas con la prueba evaluada positiva), falsos positivos (personas sin la infección positivos en la prueba), falsos negativos (infectado con prueba negativa) y verdaderos negativos (saños con prueba negativa).

Reproducibilidad y evaluación de la calidad metodológica

El protocolo de búsqueda y selección de los artículos, así como la extracción de las variables del estudio, se realizaron por dos revisores de manera independiente para garantizar la reproducibilidad de estos dos procedimientos. Para la eliminación de duplicados se exportaron los títulos de los artículos obtenidos al programa Zotero 5.0 (Corporation for Digital Scholarship Viena)®; al finalizar esta etapa se inició el proceso de clasificación de las investigaciones mediante la lectura de los resúmenes. Se extrajo la información de manera independiente por parte de los investigadores con el fin de garantizar la reproducibilidad de la extracción de las

variables del estudio. La evaluación de la calidad metodológica se hizo con la aplicación de la guía QUADAS (Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies)²⁰.

Análisis de la información

Para cada una de las pruebas se evaluó la validez a través de los parámetros de sensibilidad, especificidad, razón de verosimilitud positiva, razón de verosimilitud negativa, razón de odds (OR) diagnóstica y el área bajo la curva ROC, todos con sus respectivos intervalos de confianza del 95%. Para la interpretación de los parámetros, se consideraron resultados satisfactorios para el diagnóstico de la infección por *Paracoccidioides* (o adecuada discriminación de sanos e infectados) una razón de verosimilitud negativa < 0,3, razón de verosimilitud positiva > 4,0, área bajo la curva ROC > 0,85 y la OR diagnóstica mayor que 10.

La información fue analizada en el software Meta-DiSc (*The meta-analysis of studies of evaluations of diagnostic and screening tests*) con un nivel de significación de 0,05. Este software calcula la prueba Chi-cuadrado, Tau² y la prueba de inconsistencia (I²) para el análisis de la heterogeneidad de los parámetros de sensibilidad, especificidad, razones de verosimilitud, OR diagnóstica y el área bajo la curva ROC, los cuales son estimados como una medida combinada usando un modelo de efectos aleatorios. Para el análisis de sensibilidad del metanálisis se estima el porcentaje de peso de cada estudio en la medida global de las razones de verosimilitud, con el fin de asegurar que ningún estudio presenta un mayor efecto sobre la medida combinada.

Se realizó meta-regresión o análisis de subgrupos, según el tipo de antígeno usado y la calidad metodológica de los estudios.

Resultados

En la aplicación de las diferentes estrategias de búsqueda y fuentes de información se identificaron 2.400 artículos con los términos de búsqueda en el título, resumen y/o palabras clave, se tamizaron 840 artículos de los cuales se eliminaron 728 por no cumplir los criterios de inclusión. De los artículos elegibles se excluyeron seis por tratarse de muestras de esputo, líquido cefalorraquídeo, orina y lavado broncoalveolar, 64 por no reportar los datos para el cálculo de los verdaderos positivos, falsos positivos, verdaderos negativos y falsos negativos, 12 publicaciones que evaluaban pruebas moleculares, tres artículos para la detección de antígenos y cinco estudios sobre otros métodos diagnósticos (Figura 1).

Los artículos incluidos fueron publicados entre los años 1972 y 2017 donde se evaluaba la detección de anticuerpos para antígenos de *P. brasiliensis* y *P. lutzii* en suero, 13 estudios evaluaron más de una prueba y las pruebas analizadas incluyen inmunodifusión, western blot, ELISA, aglutinación en látex, entre otras. Los sujetos de estudio provenían principalmente de países como Brasil y Colombia, los estudios incluyeron diferentes tamaños de muestra que oscilaron entre 42 y 551, en total se incluyeron 6.156 individuos, 1.404 sanos, 2.415 con otras infecciones y 2.337 con infección por *Paracoccidioides*, 92,7% fueron hombres (Tabla 1).

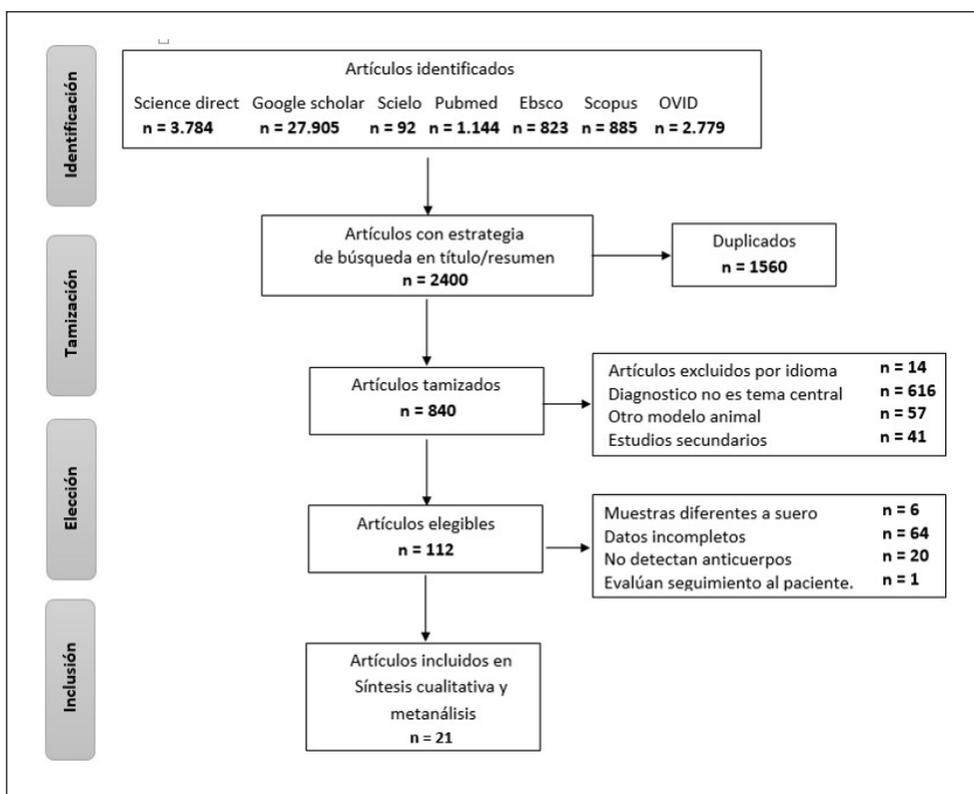


Figura 1. Flujograma de búsqueda y selección de los estudios

Tabla 1 Descripción de los estudios con base en el año de publicación, país, prueba y sujetos evaluados.

Primer autor	Año	Lugar	Prueba evaluada	Prueba de referencia	Con la infección	Otra infección	Sanos
Estudios que utilizan mezclas de antígenos							
Restrepo ²¹	1972	Colombia	Inmunofluorescencia indirecta	ND	74	150	50
Restrepo ²¹	1972	Colombia	Inmunodifusión	ND	74	150	50
Conti-Díaz ¹⁸	1978	Uruguay	Inmunolectroforesis	Directo, cultivo	16	26	0
Conti-Díaz ¹⁸	1978	Uruguay	Inmunolectroforesis-inmunodifusión	Directo, cultivo	16	26	0
Blumer ⁹	1983	EEUU	Microinmunodifusión	Fijación del complemento, inmunodifusión	114	139	0
Mendes-Giannini ²²	1984	Brasil	ABS- ELISA	ND	69	84	122
Ferreira ²³	1985	Brasil	Inmunodifusión	Directo, cultivo	22	74	18
Ferreira ²³	1985	Brasil	Inmunolectroforesis	Directo, cultivo	22	74	18
McGowan ²⁴	1985	EEUU	Inmunodifusión	Cultivo	139	177	50
McGowan ²⁴	1985	EEUU	ELISA	Cultivo	139	177	50
Camargo ²⁵	1988	Brasil	Inmunodifusión	ND	70	89	50
Del Negro ²⁶	1991	Brasil	Inmunodifusión	Directo y/o histopatológico	46	52	47
Del Negro ²⁶	1991	Brasil	Contrainmunolectroforesis	Directo y/o histopatológico	46	52	47
Silveira-Gomes ²⁷	2011	Brasil	Prueba de aglutinación en látex(AL)	Directo y/o inmunodifusión	51	75	20
Silveira-Gomes ²⁷	2011	Brasil	Inmunodifusión	Directo y/o inmunodifusión	51	75	20
Moreto ²⁸	2011	Brasil	Inmunodifusión	Directo, histopatológico y citopatológico	351	0	200
Silveira-Gomes ²⁹	2012	Brasil	AL sin activación	Directo y/o inmunodifusión	30	60	11
Silveira-Gomes ²⁹	2012	Brasil	AL con activación	Directo y/o inmunodifusión	30	60	11
Gegembauer ³⁰	2014	Brasil	Inmunodifusión	Clínica y directo	89	45	15
Gegembauer ³⁰	2014	Brasil	Inmunodifusión	Clínica y directo	89	45	15
Kamikawa ³¹	2017	Brasil	Dot-ELISA	Directo	77	44	23
Kamikawa ³¹	2017	Brasil	Inmunodifusión	Directo	77	44	23
Estudios que utilizan el antígeno gp43							
Mendes-Giannini ²²	1984	Brasil	ABS-ELISA	ND	69	84	122
De Camargo ³²	1994	Brasil	ELISA de captura	Directo y/o inmunodifusión	30	37	25
Taborda ¹³	1994	Brasil	Dot-inmunobinding (Sin Metaperyodato)	ND	50	64	50
Taborda ¹³	1994	Brasil	Dot-inmunobinding (con Metaperyodato)	ND	50	64	50
Dos Santos ⁸	2015	Brasil	Agglutinación en látex	Directo y/o inmunodifusión	65	61	38
Peron G ³³	2017	Brasil	Western blotting	ND	22	34	15
Estudios que utilizan p27							
Ortiz ^{30,*}	1998	Colombia	ELISA indirecta	ND	64	56	40
Díez ⁸	2003	Colombia	ELISA indirecta	Directo, cultivo, otra prueba serológica	37	40	50
Estudios que utilizan HSP60							
Cunha ³⁵	2002	Brasil	Inmunoblot	ND	75	52	42
Peron ³³	2017	Brasil	Western blotting	ND	22	34	15
Estudio que utiliza antígeno sintético P2							
Caldini CP ³⁶	2012	Brasil	ELISA	Inmunodifusión	33	59	37

*Se calcula la validez diagnóstica para la forma aguda, crónica y residual

Se identificaron 22 estudios que evaluaron la precisión diagnóstica de las pruebas utilizando una mezcla de antígenos. La mayoría de estos estudios aplicaron la técnica de inmunodifusión. Se identificaron siete estudios que reportan una sensibilidad del 100%, la menor fue reportada por Gegembauer (2014) con 59% (IC95% 33 – 82)³⁰. En alusión a la especificidad, en 12 investigaciones fue del 100%, la menor fue reportada por el estudio de Silveira-Gomes (2012) con 79%²⁹. La mayoría de las reacciones cruzadas al usar los exoantígenos de *P. brasiliensis* se presentan para pacientes con aspergilosis e histoplasmosis.

Seis autores evaluaron la detección de anticuerpos para la glicoproteína purificada gp 43, todos en pacientes de Brasil. Se obtuvo una sensibilidad del 100% en las pruebas de Dot inmunobinding con y sin la utilización de metaperyodato de sodio (Taborda)¹³, seguido de 98,4% reportado para la prueba de inmunoensayo con partículas de látex (Dos santos)⁸. La sensibilidad más baja fue reportada por Peron *et al* para la prueba de western blotting con 91%, por su parte la mayor especificidad fue reportada para la metodología de Dot inmunobinding con metaperyodato de sodio 100% (Taborda)¹³ y la más baja fue reportada para el test de látex 94% (Dos santos)⁸.

En los estudios realizados en Colombia la mejor sensibilidad se obtuvo en el estudio de Díez con 92% (IC95% 78-96) (8) y la menor en el de Ortiz con 73% (IC95% 61-84)³⁴. En alusión a la especificidad, la mejor se encontró en el estudio de Ortiz con 90% (IC95% 55-100)³⁴. La proteína HSP60 fue otro de los antígenos evaluados; sin embargo, su desempeño no alcanzó el 80% en ninguno de los parámetros (Perón 2017)³³.

En general, los estudios presentaron un nivel medio o satisfactorio de calidad, aunque los criterios relacionados con la descripción del estándar fueron deficiente (Figura 2). Vale precisar que la mayoría de estudios (n=19) no realizaron una selección aleatoria de los participantes y la mayoría, al reclutar sujetos en centros asistenciales, seguían la lógica de la

investigación basada en casos y controles. También se debe aclarar que el criterio QUADAS “interpretación de la prueba evaluada sin conocimiento de la referencia” no fue posible evaluarlo dado que en la metodología no se explicitan la forma de procesar las muestras (los investigadores si conocían el resultado del estándar, pero no explicitan si hubo cegamiento o independencia de quienes procesaron la evaluada).

En el metanálisis global se encontró heterogeneidad en todos los parámetros evaluados (Valor p Chi cuadrado <0,05). La medida combinada en el modelo de efectos aleatorios para la sensibilidad fue de 92,2% (IC 95% 91,1 – 93,2), la especificidad de 95,1% (IC 95% 94,3 – 95,8) y el área bajo la curva de 0,99 (Figura 3). En adición, el metanálisis de efectos aleatorios para los demás parámetros de la evaluación diagnóstica, estimó una razón de verosimilitud positiva de 24,7 (IC 95% 14,2 – 42,9), la razón de verosimilitud negativa de 0,08 (IC 95% 0,05 – 0,12) y la OR diagnóstica de 495,9 (202,1 – 1216,6).

En la Tabla 2 se compara la validez diagnóstica según los antígenos evaluados. Los estudios que utilizan mezclas de antígenos y los que utilizan gp43 evidenciaron resultados satisfactorios en todos los parámetros con diferencias significativas en la sensibilidad y especificidad; por su parte, en la combinación de estudios que utilizaron el antígeno p27 no se hallaron resultados aceptables en ninguno de los parámetros. Al excluir del metanálisis las publicaciones con menor calidad metodológica sólo disminuye la sensibilidad en las pruebas que utilizan mezcla de antígenos a 88,9% (86,8 – 90,8); en los demás parámetros, al igual que en los estudios que utilizan gp43, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas.

Discusión

La literatura relacionada con el inmunodiagnóstico de la Infección por *Paracoccidioides* es extensa y diversa. En este metanálisis se identificaron 21 estudios publicados entre los

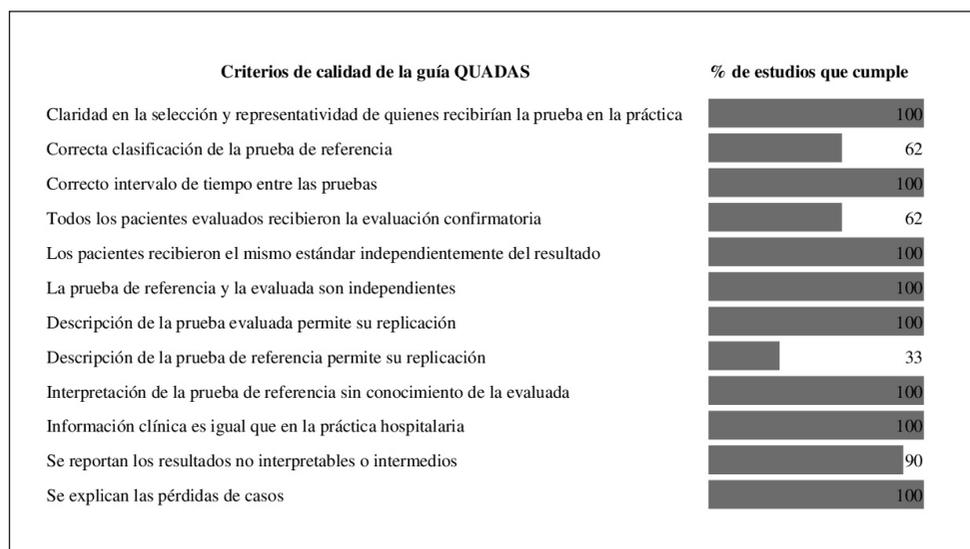


Figura 2. Proporción de estudios que cumplen los criterios de calidad de la herramienta QUADAS.

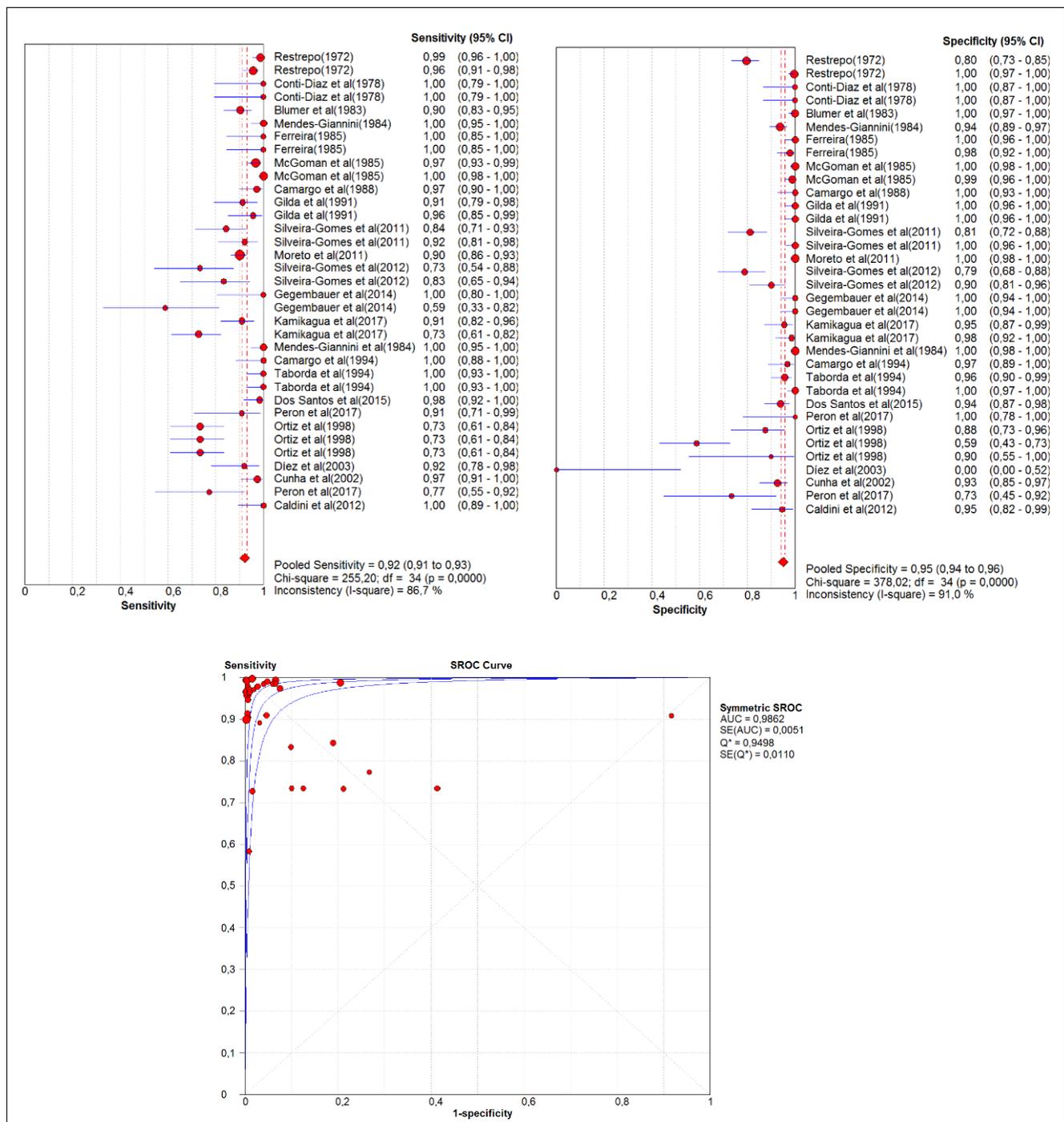


Figura 3. Metanálisis de la sensibilidad, especificidad y área bajo la curva ROC para el total de pruebas inmunológicas en la infección por *Paracoccidioides*

años 1972 al 2017, realizados en su mayoría en pacientes de Colombia y Brasil, con predominio de la infección en hombres. Este hallazgo coincide con la literatura descrita en la medida que la PCM es endémica en Colombia y Brasil, este último concentra alrededor del 80% de los casos reportados en el mundo^{37,38}. Con respecto al sexo, los datos coinciden con estudios previos que han descrito que la proporción de la infección en hombres respecto a las mujeres varía desde 5,4:1 hasta 11,7:1³⁸ lo que apoya la hipótesis del factor protector de las hormonas femeninas en la infección por *Paracoccidioides sp*³⁹⁻⁴¹.

Este estudio puso de manifiesto que para el diagnóstico serológico de PCM se han empleado diferentes preparaciones antigénicas que incluyen *pool* de antígenos, antígenos purificados o recombinantes gp43, p27, proteína de choque térmico HSP60 y el antígeno sintético P2. En alusión a la glicoproteína de 43 kda (gp43), se encontró que los test que la utilizaron reportaron los valores más altos en todos los parámetros de validez diagnóstica. Una explicación a estos resultados se encuentra en que la gp43 es la proteína más predominante e inmunogénica de *P. brasiliensis*, lo que se ve reflejado en los altos niveles de anticuerpos anti-gp 43 en

pacientes que presentan la forma grave de la enfermedad⁴². De hecho, el 100% de los pacientes con PMC mostraron resultados positivos cuando fueron evaluados con el ensayo de Dotimmunobinding¹³. Sin embargo, algunos autores enfatizan que no se recomienda el uso de una única preparación de antígeno en las pruebas serológicas convencionales, ya que se han encontrado bajas concentraciones de esta glucoproteína en filtrados del cultivo de cepas de *P. lutzii*; así como variaciones en su producción entre aislados pertenecientes a la misma especie⁴². Sumado a ello, la complejidad técnica para su purificación, así como los costos asociados¹⁶ hacen que sea preferible la utilización de un *pool* de antígenos.

En coherencia con lo anterior, en este estudio la mayoría de investigaciones utilizaron mezclas antigénicas en las pruebas serológicas como derivados de la pared celular, citoplasmáticos y filtrados de cultivo⁴³. Al respecto, algunos investigadores sostienen que existen múltiples dificultades en la estandarización para obtener mezclas de antígenos, puesto que ellos varían en calidad dependiendo del aislado del hongo, la fase morfológica, las condiciones de cultivo, el tiempo de inoculación, la técnica empleada, el uso de múltiples subcultivos¹⁷ y además, afectan la especificidad por la presencia de antígenos compartidos con otros hongos⁴⁴. No obstante, este estudio puso en evidencia que a pesar de la variabilidad en los parámetros descritos, todos los criterios de validez diagnóstica que utilizaron mezclas de antígenos fueron satisfactorios y muy próximos a los que utilizaron el antígeno específico gp43. En este sentido, estudios posteriores deberían evaluar la costo-efectividad en la utilización de ambas técnicas.

Por otro lado, con el fin de estandarizar la obtención del antígeno y mejorar el serodiagnóstico de la PCM se ha propuesto la identificación de antígenos específicos alternos a la gp43 como la P27, HSP60 y el antígeno sintético P2. En alusión a la proteína p27 en este estudio no se encontraron resultados satisfactorios en la medida combinada de ninguno de los parámetros de validez diagnóstica evaluados. Ortiz *et al* reportaron una especificidad del 87,5%, la cual disminuye al comparar la reactividad con sueros heterólogos a 58,7%; así como una sensibilidad del 73,4%, sugiriendo que la proteína p27 puede representar un sólo epítipo y por lo tanto ser reconocido sólo por algunos pacientes con PCM³⁴. Por otro lado, la HSP60 pertenece a la familia de proteínas de choque

térmico (HSP) y es altamente inmunogénica, sin embargo su desempeño en los estudios incluidos varió significativamente pese a la utilización de la misma técnica (Western blotting), Cunha *et al.*, indica una sensibilidad de 97,3% y especificidad de 92,5%³⁵, mientras que Perón *et al* reporta 77,3% de sensibilidad y 73% de especificidad con evidencia de reacciones cruzadas en pacientes con histoplasmosis, probablemente originado por la homología de la proteína con HSP presente en *Histoplasma capsulatum* y en sujetos sanos por la presencia de anticuerpo anti-HSP³³.

El antígeno que tuvo el mejor desempeño fue el péptido sintético P2 con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 94,6% por ELISA, este estudio realizado por Pistelli *et al* afirma que el antígeno presenta características de mimotopo a gp75³⁶ la cual es una proteína de superficie con actividad fosfatasa bien caracterizada⁴⁵. Una de las ventajas de este péptido es que puede ser modificado para mejorar el reconocimiento y disminuir las reacciones cruzadas con sueros de otras micosis, convirtiéndose en una prometedora alternativa de estandarización serológica para esta micosis, además que es una estrategia más barata, simple y reproducible, en comparación con la purificación de proteínas³⁶.

Entre las técnicas incluidas en este estudio se encuentran la inmunodifusión, inmunoelectroforesis, Dot-inmunobinding, Western blotting, Inmunoblot, ELISA y pruebas de aglutinación en látex. Durante años la inmunodifusión ha sido la prueba serológica de elección para el diagnóstico de pacientes con Infección por *Paracoccidioides*; no obstante, es una técnica engorrosa que requiere mucho tiempo para su ejecución³¹. Algunos laboratorios sugieren que la inmunoelectroforesis podría implementarse como prueba de rutina para la tamización de la PCM en pacientes con sospecha clínica debido a la rapidez con la que se pueden obtener los resultados; no obstante, otros autores argumentan que el tiempo es prácticamente el mismo que en la inmunodifusión; además que en la inmunoelectroforesis es necesario un buffer de agarosa y una fuente de poder, condiciones que no siempre están disponibles en zonas endémicas de países subdesarrollados¹⁶. En este contexto, la ELISA se ha convertido en una técnica popular para la identificación de anticuerpos de manera que puede aplicarse en la práctica clínica habitual o en investigación, esta técnica ha sido ampliamente aceptada como una prueba rápida, versátil, simple de realizar y econó-

Tabla 2. Meta-regresión de la validez diagnóstica según los antígenos utilizados.

Parámetro	Mezcla de antígenos (IC 95%)	gp43 (IC 95%)	p27 (IC 95%)	Otras (IC 95%)
S	92,9 (91,6 - 94,1)	99,0 (97,0 - 99,8)	76,4 (70,4-81,8)	94,6 (89,2-97,8)
E	95,6 (94,7 - 96,4)	97,9 (96,4 - 98,9)	70,3 (60,4-79,0)	91,1 (85,3-95,2)
RVP	40,7 (18,6 - 88,8)	30,5 (13,2 - 70,3)	2,57 (0,8 - 7,9)	8,1 (2,7 - 24,1)
RVN	0,07 (0,05 - 0,13)	0,02 (0,01 - 0,08)	0,34 (0,26 - 0,44)	0,06 (0,05 - 0,78)
OR dx	786,1 (263,6 - 2344,5)	2130,0 (519,0 - 8740,9)	7,9 (2,3 - 27,1)	137,7 (6,65 - 2847,0)
AUROC	0,99	0,99	0,80	0,73

S: Sensibilidad, E: Especificidad, RVP: Razón de verosimilitud negativa, RVN: Razón de verosimilitud negativa, OR dx: OR diagnóstica, AUROC: Área bajo la curva ROC

mica, que utiliza reactivos de larga duración que pueden ser almacenados fácilmente, además, que se pueden determinar diferentes clases de inmunoglobulinas permitiendo así una evaluación más precisa de la respuesta inmune humoral^{16,31}.

En alusión a la calidad metodológica de las evaluaciones diagnósticas se encontró alto riesgo de sesgo en el dominio de selección de los pacientes, el cual se dio a expensas de la no inclusión de una muestra aleatoria o consecutiva, lo que podría derivar en un sesgo de espectro clínico. Si bien este tipo de sesgos afecta en mayor medida la validez externa que a los parámetros de precisión diagnóstica; la aplicabilidad o extrapolación de los resultados de estudios individuales será limitada debido a las posibles diferencias en el espectro de pacientes, lo cual hace referencia no sólo al estadio de la enfermedad sino también a las características demográficas y a la presencia de comorbilidades. En este sentido, el meta-análisis, al resumir la información de estudios desarrollados en diferentes contextos, podría mejorar la validez externa o extrapolación de resultados a diferentes lugares, aunque el nivel de evidencia que se genera depende de la calidad de los estudios originales, en este caso, comprometida porque algunos estudios son básicamente de casos y controles validados con muestras históricas de pacientes con paracoccidiodomicosis (en algunos casos con patología) y en otras con muestras históricas de pacientes presumidos (no es claro como se hizo el diagnóstico de la enfermedad) lo que sobreestima seriamente la sensibilidad⁴⁶. Evaluaciones diagnósticas posteriores deberían incluir un mejor espectro clínico y una descripción detallada de la población incluida²⁰.

Entre las principales limitaciones de esta investigación se encuentra la dificultad para acceder a algunas publicaciones, ya que cerca de 30 estudios no se pudieron recuperar a pesar de escribirles a los autores. Además, no fue posible hacer un análisis por subgrupos debido a la escasa información reportada para variables clínicas como la presencia de inmunosupresión, la presentación aguda, crónica o residual, el tipo de lesión y el agente causal.

Pese a las limitaciones descritas este estudio permite concluir que las pruebas inmunológicas disponibles para el diagnóstico serológico de la infección por *Paracoccidioides* generan resultados satisfactorios en todos los parámetros de validez diagnóstica, con excepción de los que utilizan como antígeno p27. Sumado a ello, no se encontraron diferencias clínicamente importantes en los índices de validez diagnóstica de los estudios que utilizaron *pool* de antígenos o la proteína específica gp43. Sin embargo, el nivel de evidencia es bajo debido a la calidad metodológica de los estudios incluidos.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Conflicto de intereses. Ninguno de los autores declara conflicto de intereses para la publicación de este manuscrito.

Financiación. Universidad de Cooperativa de Colombia, Universidad de Antioquia

Bibliografía

- Paniago AM, Aguiar JI, Aguiar ES, Da Cunha RV, Pereira GR, Londero AT WB. Paracoccidiodomicosis: a clinical and epidemiological study of 422 cases observed in Mato Grosso do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003;36(4):455–459.
- Calle D, Rosero DS, Orozco LC, Camargo D, Castañeda E, Restrepo A. Paracoccidiodomicosis in Colombia: an ecological study. *Epidemiol Infect.* 2001;126(78):309–15.
- San-Blas G, Niño-Vega G, Iturriaga T. Paracoccidioides brasiliensis and paracoccidiodomicosis: Molecular approaches to morphogenesis, diagnosis, epidemiology, taxonomy and genetics. *Med Mycol.* 2002;40(3):225–42.
- Oliveira Silva e Souza C, Antonio Goes Scorsioni F, de Cássia Buzinaro Ajala R, Vinicius P Rodrigues M, Vanessa Moris D. Paracoccidiodomicose, Uma Endemia Brasileira: Novas Descobertas, Novos Desafios. *Colloq Vitae.* 2015; 7(2):57-71.
- Perenha-Viana MCZ, Gonzales IAA, Brockelt SR, Machado LNC, Svidzinski TIE. Serological diagnosis of paracoccidiodomicosis through a Western blot technique. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(4):616–9.
- Marques SA. Paracoccidiodomicosis: epidemiological, clinical, diagnostic and treatment up-dating. *An Bras Dermatol.* 2013;88(5):700–11.
- Fernandes VC, Coitinho JB, Veloso JMR, Araújo SA, Pedroso EP, Goes AM. Combined use of Paracoccidioides brasiliensis recombinant rPb27 and rPb40 antigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for immunodiagnosis of paracoccidiodomicosis. *J Immunol Methods.* 2011;367(1–2):78–84.
- Diez S, Gomez B.L., McEwen, J.G., Restrepo, A., Hay, R.J., Hamilton, A.J. Combined use of Paracoccidioides brasiliensis recombinant 27-kilodalton and purified 87-kilodalton antigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of paracoccidiodomicosis. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(4): 1536-1542.
- Blumer SO, Jalbert M, Kaufman L. Rapid and reliable method for production of a specific Paracoccidioides brasiliensis immunodiffusion test antigen. *J Clin Microbiol.* 1984;19(3):404–7.
- Albuquerque CF, Marques Silva SH, Camargo ZP. Improvement of the Spda efficacy of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of Paracoccidiodomicosis. *J Clin Microbiol.* 2005;43(4):1944–1946.
- Silveira-Gomes F, Marques-da-Silva SH. Effects of pretreating serum samples on the performance of a latex agglutination test for serodiagnosis of paracoccidiodomicosis. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(3):386–90.
- Kamikawa CM, Vicentini AP. Dot-Blot Methodology for Rapid Diagnosis of Paracoccidiodomicosis Caused by Paracoccidioides brasiliensis. *J Infect Dis Ther.* 2015;3(6):2.
- Taborda CP, Camargo ZP. Diagnosis of paracoccidiodomicosis by dot immunobinding assay for antibody detection using the purified and specific antigen gp43. *J Clin Microbiol.* 1994;32(2):554–6.
- Elias Costa MR, Da Silva Lacaz C, Kawasaki M, De Camargo ZP. Conventional versus molecular diagnostic tests. *Med Mycol.* 2000;38 Suppl 1:139–45. 20.
- Cano LE, Restrepo A. Predictive value of serologic tests in the diagnosis and follow-up of patients with paracoccidiodomicosis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1987;29(5):276–83.
- De Camargo ZP. Serology of paracoccidiodomicosis. *Mycopathologia.* 2008;165(4–5):289–302.
- da Silva J de F, de Oliveira HC, Marcos CM, Assato PA, Fusco-Almeida AM, Mendes-Giannini MJS. Advances and challenges in paracoccidiodomicosis serology caused by Paracoccidioides species complex: An update. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016;84(1):87–94.
- Conti-Díaz IA, Mackinnon JE, Calegari L, Casserone S. Estudio comparativo de la inmunoelectroforesis (IEF) y de la inmunoelectroosmoforesis-inmunodifusión (IEOF-ID) aplicadas al diagnóstico de la

- paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia*.1978; 63:161-165.
19. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group TP. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLOS Med*. Public Library of Science; 2009 Jul 21; 6(7):e1000097
 20. Whiting P, AW R, JB R, PM B, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol*. 2003;3:25.
 21. Restrepo a, Moncada LH. Indirect fluorescent-antibody and quantitative agar-gel immunodiffusion tests for the serological diagnosis of paracoccidioidomycosis. *Appl Microbiol*. 1972;24(1):132-7.
 22. Mendes-Giannini MJS, Camargo ME, Lacaz CS, Ferreira AW. Immunoenzymatic absorption test for serodiagnosis of paracoccidioidomycosis. *J Clin Microbiol*. 1984;20(1):103-8.
 23. Ferreira-da-Cruz, M. F., B. Galvao-Castro, and B. Wanke. 1985. Producao e padronizacao dos antigenos de *Paracoccidioidesbrasiliensis* (Pb), *Histoplasma capsulatum* (Hc) e *Aspergillus fumigatus* (Af) para uso no imunodiagnóstico. Comparacao entre as tecnicas de imunodifusao e imunoelectrosmoforese. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio de Janeiro* 80:301-305.
 24. McGowan KL, Buckley HR. Preparation and use of cytoplasmic antigens for the serodiagnosis of paracoccidioidomycosis. *J Clin Microbiol*. 1985;22(1):39-43.
 25. De Camargo ZP, Unterkircher C, Campoy SP, Travassos LR. Production of *Paracoccidioides brasiliensis* exoantigens for immunodiffusion tests. *J Clin Microbiol*. 1988;26(10):2147-51.
 26. Del Negro et al. Sensibility, specificity and efficiency of serological tests of PCM diagnosis.1991.*Rev. Inst. Med. Tropical*.33:277-280.
 27. Silveira-Gomes F, Sarmento DN, Pinto TM, Pimentel RF, Nepomuceno LB, Espirito Santo EPT, et al. Development and evaluation of a latex agglutination test for the serodiagnosis of paracoccidioidomycosis. *Clin Vaccine Immunol*. 2011;18(4):604-8.
 28. Moreto TC, Marques MEA, de Oliveira MLSC, Moris D V., de Carvalho LR, Mendes RP. Accuracy of routine diagnostic tests used in paracoccidioidomycosis patients at a university hospital. *Trans R Soc Trop Med Hyg [Internet]*. 2011;105(8):473-8.
 29. Silveira-Gomes F, Marques-da-Silva SH. Effect of serum sample inactivation on the performance of latex agglutination test for paracoccidioidomycosis serodiagnosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012;107(4):510-2.
 30. Gegembauer G, Araujo LM, Pereira EF, Rodrigues AM, Paniago AM, et al. (2014) Serology of Paracoccidioidomycosis Due to *Paracoccidioides* sp. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e2986.
 31. Kamikawa, C.M.; Mendes, R.P.; Vicentini, A.P. Standardization and validation of Dot-ELISA assay for *Paracoccidioides brasiliensis* antibody detection. *J. Venom. Anim. Toxins Trop. Dis*. 2017, 23, 11.
 32. Camargo ZP, Gesztesi JL, Saraiva EC, Tabora CP, Lopes JD. Monoclonal antibody capture enzyme immunoassay for detection of *Paracoccidioides brasiliensis* antibodies in Monoclonal Antibody Capture Enzyme Immunoassay for Detection of *Paracoccidioides brasiliensis* Antibodies in Paracoccidioidomycosis. *J Clin Microbiol*. 1994;32(10):2377-81.
 33. Peron G, Fernandes FF, Landgraf TN, Martinez R, Panunto-Castelo A. Recombinant 60-kDa heat shock protein from *Paracoccidioides brasiliensis*: Is it a good antigen for serological diagnosis of paracoccidioidomycosis? *Brazilian J Med Biol Res*. 2017;50(4):1-6
 34. Ortiz BL, Díez S, Urán ME, Rivas JM, Romero M, Caicedo V, et al. Use of the 27-kilodalton recombinant protein from *Paracoccidioides brasiliensis* in serodiagnosis of paracoccidioidomycosis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1998;5(6):826-30.
 35. Cunha DA, Zancopé-Oliveira RM, Felipe MSS, Salem-Izacc SM, Deepe Jr GS, Soares CMA. Heterologous expression, purification, and immunological reactivity of a recombinant HSP60 from *Paracoccidioides brasiliensis*. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002.9,374.
 36. Caldini CP, Xander P, Kioshima ÉS, Bachi ALL, de Camargo ZP, Mariano M, et al. Synthetic Peptides Mimic gp75 from *Paracoccidioides brasiliensis* in the Diagnosis of Paracoccidioidomycosis. *Mycopathologia*. 2012;174(1):1-10.
 37. Calle D, Rosero DS, Orozco LC, Camargo D, Castañeda E, Restrepo A. Paracoccidioidomycosis in Colombia: an ecological study. *Epidemiol Infect*. 2001;126(78):309-15.
 38. Shakar J, Restrepo A, Clemons KV, Stevens DA. Hormones and the Resistance of Women to Paracoccidioidomycosis. *Clin. Microbiol. Rev*. 2011; 24 (2): 296-313.
 39. Loose DS, Stover EP, Restrepo A, Stevens DA, Feldman D. Estradiol binds to a receptor-like cytosol binding protein and initiates a biological response in *Paracoccidioides brasiliensis*. 1983; 80 (24): 7659-7663.
 40. Restrepo A, Salazar ME, Cano LE, Stover EP, Feldman D, Stevens DA. Estrogens inhibit mycelium-to-yeast transformation in the fungus *Paracoccidioides brasiliensis*: implications for resistance of females to paracoccidioidomycosis. *Infect Immun* 1984; 46(2): 346-53.
 41. Aristizabal BH, Clemons KV, Stevens DA, Restrepo A. Morphological transition of *Paracoccidioides brasiliensis* conidia to yeast cells: In vivo inhibition in females. *Infect Immun* 1998; 66(11): 5587-91.
 42. R.M. Z-O, C.V. P, M. de MM, A.C.F. do V. Diagnostic Aspects of Paracoccidioidomycosis. *Curr Trop Med Reports [Internet]*. 2014;1(2):111-8.
 43. Brummer E, Castaneda E, Restrepo A, Microbiologia G De, Bogota S De. Paracoccidioidomycosis : an Update. 1993;6(2):89-117..
 44. Hamilton AJ. Serodiagnosis of histoplasmosis, paracoccidioidomycosis and penicilliosis marneffeii; Current status and future trends. *Med Mycol*. 1998;36(6):351-64.
 45. Xander P, Vigna AF, Feitosa LS, Pugliese L, Bailão AM, Soares CM, et al. A surface 75-kDa protein with acid phosphatase activity recognized by monoclonal antibodies that inhibit *Paracoccidioides brasiliensis* growth. *Microbios Infect.*. 2007; 9 (12): 1484 - 1492.
 46. Lijmer JG, Mol BW, Heisterkamp Set al. Empirical Evidence of Design-Related Bias in Studies of Diagnostic Tests. *JAMA*. 1999; 282(11): 1061-1066. doi:10.1001/jama.282.11.106